

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA

CARRERA DE INGENIERIA QUÍMICA

HIDROLISIS ENZIMATICA DEL EXCEDENTE ORGANICO DEL BANANO USANDO EL  
HONGO TRAMETES VERSICOLOR PARA LA OBTENCION DE ETANOL

TESIS PARA LA OBTENCIÓN DEL TITULO

DE INGENIERA QUIMICA

AUTOR: MARCIA LUCIA VALENZUELA MARTINEZ

TUTOR: ING. EDUARDO SÁNCHEZ S.


QUITO

2012

## APROBACIÓN

En calidad de tutor, luego del estudio y análisis realizado sobre la tesis presentado por la Señorita MARCIA LUCIA VALENZUELA MARTINEZ que titula HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA DEL EXCEDENTE ORGÁNICO DEL BANANO USANDO EL HONGO TRAMETES VERSICOLOR PARA LA OBTENCIÓN DE ETANOL, sobre el particular informo que la tesis tiene valor académico y utiliza conocimientos de la Ingeniería Química que han resuelto el problema y los objetivos planteados, por lo que declaro mi conformidad con el mismo.

En la ciudad de Quito, a los 04 días del mes de octubre de 2012.



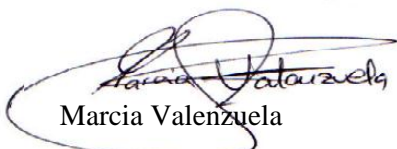
Ing. Eduardo Sánchez  
Tutor

## AUTORIZACIÓN

Yo, MARCIA LUCIA VALENZUELA MARTINEZ en calidad de autor de la tesis realizada sobre la HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA DEL EXCEDENTE ORGÁNICO DEL BANANO USANDO EL HONGO TRAMETES VERSICOLOR PARA LA OBTENCIÓN DE ETANOL, por la presente autorizo a la UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR, hacer uso de todos los contenidos que me pertenecen o de parte de los que contiene esta obra, con fines estrictamente académicos o de investigación.

Los derechos que como autor me corresponden, con excepción de la presente autorización, seguirán vigentes a mi favor, de conformidad con lo establecido en los artículos 5, 6, 8, 19 y demás pertinentes de la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento.

Quito 09 de octubre o de 2012



Marcia Valenzuela

C.C: 1003542165

valenzuelamarciaiq@hotmail.com

A mi familia  
por todo el  
Apoyo y a mi  
fiel amigo  
Osito.

## **AGRADECIMIENTOS**

Mis agradecimientos a:

Mi madre, a mi padre y hermano por su apoyo constante para culminar mi carrera, durante mi vida estudiantil.

Ingeniero Eduardo Sánchez, tutor de mi tesis por su valiosa orientación y su guía, al igual que al magister Paul Gamboa por sus conocimientos, tiempo y paciencia.

Ingeniero Jorge Medina e Ingeniero Carlos Güepud, por brindarme la oportunidad de trabajar en el laboratorio de Investigación del Área de Biotecnología de la Facultad de Ingeniería Química.

## CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCION	1
1 MARCO TEÓRICO	3
1.1 Sustrato	3
1.2 Planta de banano	4
1.2.1 Aspectos botánicos y de cultivo del banano.	4
1.2.2 Manejo de los residuos de banano..	5
1.2.3 Composición química de los residuos del cultivo de banano.	6
1.2.4 Constituyentes de los residuos lignocelulósicos del banano	6
1.2.4.1 Celulosa	7
1.2.4.2 Hemicelulosa	8
1.2.4.3 Lignina	8
1.3 Hongos	9
1.3.1 Cinética de crecimiento.	10
1.3.2 Hongo <i>Trametes Versicolor</i> .	11
1.3.2.1 Taxonomía	11
1.3.2.2 Hábitat	12
1.3.2.3 Hongo de la pudrición blanca	12
1.3.3 Actividad enzimática del hongo.	13
1.4 Enzimas	18
1.4.1 Generalidades.	18
1.4.2 Clasificación	19
1.4.3 Mecanismos de Reacción.	20
1.4.4 Cofactores. .	20
1.4.5 Rasgos característicos de los enzimas como catalizadores.	20
1.4.6 Centro Activo. .	21
1.4.7 Enzimas celulasas.	21
1.5 Cinética enzimática.	23
1.6 Complejo Enzima-Sustrato.	24
1.7 Hidrólisis enzimática de los residuos celulósicos.	25
1.8 Fermentación	26
1.8.1 Conceptos.	27

1.8.2 Clasificación.	28
1.8.3 Fermentación Alcohólica.	29
1.8.4 Mecanismo de Reacción y Balance Energético.	29
1.8.5 Limitaciones del Proceso.	30
2. MARCO EXPERIMENTAL	33
2.1 Proceso experimental seleccionado	33
2.1.1 Descripción del proceso	33
2.1.2 Diagrama de flujo del proceso	35
2.2 Diseño Experimental para el crecimiento del hongo.	36
2.3 Materiales y Equipos	37
2.3.1 Adaptación del hongo	37
2.3.2 Determinación de lignina	39
2.3.3 Hidrólisis enzimática	40
2.3.4 Determinación de azúcares reductores	40
2.3.5 Fermentación	41
2.4 Sustancias y reactivos	41
2.4.1 Adaptación del hongo	41
2.4.2 Determinación de lignina	42
2.4.3 Hidrólisis enzimática	43
2.4.4 Determinación de azúcares reductores	43
2.4.5 Fermentación	43
2.5 Procedimiento	43
2.5.1 Adaptación del hongo	43
2.5.2 Determinación de lignina	46
2.5.3 Hidrólisis enzimática de la celulosa	47
2.5.4 Determinación de azúcares reductores	47
2.5.5 Fermentación	48
2.6 Parte Experimental	48
3. CALCULOS Y RESULTADOS	52
3.1 Cálculo del Porcentaje de Lignina.	52
3.2 Cálculo del Valor Medio del Porcentaje de Lignina	52
3.3 Cálculo del Rendimiento de Azúcares Reductores obtenidos.	53
3.3.1 Para la repetición de la muestra A: %Rendimiento.	53
3.4 Cálculo de la cantidad de levadura para la fermentación.	53
3.3.1 Para la repetición de la muestra A: masa de levadura.	53
3.5 Cálculo del Rendimiento de alcohol obtenido	54
3.5.1 Para la repetición de la muestra A: %Rendimiento de alcohol	55

3.6 Cálculo del modelo cinético logístico para el crecimiento del hongo	56
3.6.2 <i>Análisis Estadístico aplicado a la influencia de la lignina en el % de azúcares reductores.</i>	112
3.7 Tratamiento estadístico	113
3.7.1 <i>Análisis estadístico aplicado al tratamiento dado a los sustratos con el hongo Trametes Versicolor</i>	113
4. DISCUSIÓN	119
5 .CONCLUSIONES	122
6. RECOMENDACIONES	124
CITAS BIBLIOGRÁFICAS	125
BIBLIOGRAFÍA	126
ANEXOS	129



## LISTA DE TABLAS

	<b>Pág.</b>
Tabla 1. Sustratos utilizados en el cultivo del hongo <i>Trametes Versicolor</i>	3
Tabla 2. Análisis proximal de los residuos del cultivo de banano en base seca (100g)	5
Tabla 3. Datos para determinar la Cantidad de Lignina en el Sustratos	48
Tabla 4. Crecimiento del hongo <i>Trametes Versicolor</i> a diferentes pH.	49
Tabla 5. Datos para determinar la cantidad de lignina después del tratamiento con el hongo <i>Trametes</i>	49
Tabla 6. Datos para determinar azúcares reductores posterior a la hidrólisis enzimática mediante Celulasas.	50
Tabla 7. Datos para la Fermentación	51
Tabla 8. Porcentaje de lignina después del tratamiento con el Hongo <i>Trametes Versicolor</i>	52
Tabla 9. Rendimiento de los azúcares reductores para las diferentes muestras	53
Tabla 12. Gramos de levadura para la fermentación de cada muestra	54
Tabla 13. Rendimiento de alcohol para las diferentes muestras	55
Tabla 14. Datos de crecimiento de la muestra C para el crecimiento del hongo con un pH de 7,5 en un tiempo de 3 semanas.	56
Tabla 15. Datos de linealización de la muestra C para el crecimiento del hongo con un pH de 7,5 en un tiempo de 3 semanas.	57
Tabla 16. Crecimiento del hongo de la muestra C para el crecimiento del hongo con un pH de 7,5 experimental y teórico.	58
Tabla 17. Datos de crecimiento de la muestra F para el crecimiento del hongo con un pH de 7,5 en un tiempo de 6 semanas.	58
Tabla 18. Datos de linealización de la muestra F para el crecimiento del hongo con un pH de 7,5 en un tiempo de 6 semanas.	59
Tabla 19. Crecimiento del hongo de la muestra F para el crecimiento del hongo con un pH de 7,5 experimental y calculado.	60
Tabla 20. Datos de crecimiento de la muestra A para el crecimiento del hongo con un pH de 7,5 en un tiempo de 9 semanas.	61
Tabla 21. Datos de linealización de la muestra A para el crecimiento del hongo con un pH de 7,5 en un tiempo de 9 semanas.	61

Tabla 22. Crecimiento del hongo de la muestra A para el crecimiento del hongo con un pH de 7,5 experimental y calculado	62
Tabla 23. Datos de crecimiento del grupo de muestras con un pH de 7,5	63
Tabla 24. Datos de crecimiento del grupo de muestras con un pH de 7,5	64
Tabla 25. Crecimiento del hongo de la muestras con un pH de 7,5 experimental y teórico	65
Tabla 26. Datos de crecimiento de la muestra D con un pH de 7,5 en un tiempo de 3 semanas	66
Tabla 27. Datos de linealización de la muestra D para el crecimiento del hongo con un pH de 7 en un tiempo de 3 semanas.	66
Tabla 28. Crecimiento del hongo de la muestra D para el crecimiento del hongo con un pH de 7 experimental y calculado.	67
Tabla 29. Datos de crecimiento de la muestra B para el crecimiento del hongo con un pH de 7 en un tiempo de 6 semanas.	68
Tabla 30. Datos de linealización de la muestra B para el crecimiento del hongo con un pH de 7 en un tiempo de 6 semanas.	68
Tabla 31. Crecimiento del hongo de la muestra B para el crecimiento del hongo con un pH de 7 experimental y calculado.	69
Tabla 32. Datos de crecimiento de la muestra E con un pH de 7 en un tiempo de 9 semanas.	70
Tabla 33. Datos de linealización de la muestra E para el crecimiento del hongo con un pH de 7 en un tiempo de 9 semanas.	71
Tabla 34. Crecimiento del hongo de la muestra con un pH de 7 experimental y teórico	72
Tabla 35. Datos de crecimiento del grupo de un pH de 7.	72
Tabla 36. Datos de linealización de las muestra con un pH de 7	73
Tabla 37. Crecimiento del hongo de la muestras del crecimiento del hongo con un pH de 7 experimental y calculado.	74
Tabla 38. Datos de crecimiento de la muestra J con un pH de 6,63 en un tiempo de 3 semanas.	75
Tabla 39. Datos de linealización de la muestra J para el crecimiento del hongo con un pH de 6,63 en un tiempo de 3	76
Tabla 40. Crecimiento del hongo de la muestra J con un pH de 6,63 experimental y teórico	77
Tabla 41. Datos de crecimiento de la muestra P para el crecimiento del hongo con un pH de 6,63 en un tiempo de 6 semanas.	77
Tabla 42. Datos de linealización de la muestra P para el crecimiento del hongo con un pH	78

de 7,5 en un tiempo de 6 semanas.

Tabla 43. Crecimiento del hongo de la muestra P para el crecimiento del hongo con un pH de 6,63 experimental y calculado. 79

Tabla 44. Datos de crecimiento de la muestra J para el crecimiento del hongo con un pH de 6,63 en un tiempo de 9 semanas. 80

Tabla 45. Datos de linealización de la muestra K para el crecimiento del hongo con un pH de 6,63 en un tiempo de 9 semanas. 80

Tabla 46. Crecimiento del hongo de la muestra K con un pH de 6,63 experimental y calculado. 81

Tabla 47. Datos de crecimiento del grupo de muestras con pH de 6,63 82

Tabla 48. Datos de linealización de la muestra con un pH de 6,63 83

Tabla 49. Crecimiento del hongo de la con pH de 6,63 experimental y calculado 84

Tabla 50. Datos de crecimiento de la muestra J para el crecimiento del hongo con un pH de 6,29 en un tiempo de 3 semanas 84

Tabla 51. Datos de linealización de la muestra G para el crecimiento del hongo con un pH de 6,29 en un tiempo de 3 semanas. 85

Tabla 52. Crecimiento del hongo de la muestra G para el crecimiento del hongo con un pH de 6,29 experimental y calculado. 86

Tabla 53. Datos de crecimiento de la muestra L para el crecimiento del hongo con un pH de 6,29 en un tiempo de 6 semanas 87

Tabla 54. Datos de linealización de la muestra L para el crecimiento del hongo con un pH de 6,29 en un tiempo de 6 semanas. 88

Tabla 55. Crecimiento del hongo de la muestra L para el crecimiento del hongo con un pH de 6,29 experimental y calculado. 89

Tabla 56. Datos de crecimiento de la muestra O para el crecimiento del hongo con un pH de 6,29 en un tiempo de 9 semanas. 89

Tabla 57. Datos de linealización de la muestra K para el crecimiento del hongo con un pH de 6,29 en un tiempo de 9 semanas. 90

Tabla 58. Crecimiento del hongo de la muestra K para el crecimiento del hongo con un pH de 6,29 experimental y calculado. 91

Tabla 59. Datos de crecimiento del grupo de muestras para el crecimiento del hongo con un pH de 6,29. 92

Tabla 60. Datos de linealización de la muestra con un pH de 6,29. 92

Tabla 61. Crecimiento del hongo de la muestras del crecimiento del hongo con un pH de 6,29 experimental y calculado 93

Tabla 62. Datos de crecimiento de la muestra H para el crecimiento del hongo con un pH de 5,7 en un tiempo de 3 semanas.	94
Tabla 63. Datos de linealización de la muestra H para el crecimiento del hongo con un pH de 5,7 en un tiempo de 3 semanas.	95
Tabla 64. Crecimiento del hongo de la muestra H para el crecimiento del hongo con un pH de 5,7 experimental y calculado.	96
Tabla 65. Datos de crecimiento de la muestra M para el crecimiento del hongo con un pH de 5,7 en un tiempo de 6 semanas.	96
Tabla 66. Datos de linealización de la muestra L para el crecimiento del hongo con un pH de 6,29 en un tiempo de 6 semanas.	97
Tabla 67. Crecimiento del hongo de la muestra M para el crecimiento del hongo con un pH de 5,7 experimental y calculado.	98
Tabla 68. Datos de crecimiento de la muestra Q para el crecimiento del hongo con un pH de 5,7 en un tiempo de 9 semanas.	99
Tabla 69. Datos de linealización de la muestra Q para el crecimiento del hongo con un pH de 5,7 en un tiempo de 9 semanas	99
Tabla 70. Crecimiento del hongo de la muestra Q para el crecimiento del hongo con un pH de 5,7 experimental y calculado.	100
Tabla 71. Datos de crecimiento del grupo de muestras para el crecimiento del hongo con un pH de 5,7.	101
Tabla 72. Datos de linealización de la muestra con un pH de 5,7.	102
Tabla 73. Crecimiento del hongo de la muestras del crecimiento del hongo con un pH de 5,7 experimental y calculado.	103
Tabla 74. Datos de crecimiento de la muestra I para el crecimiento del hongo con un pH de 5,15 en un tiempo de 3 semanas.	104
Tabla 75. Datos de linealización de la muestra I para el crecimiento del hongo con un pH de 5,15 en un tiempo de 3 semanas.	104
Tabla 76. Crecimiento del hongo de la muestra I para el crecimiento del hongo con un pH de 5,15 experimental y calculado.	105
Tabla 77. Datos de crecimiento de la muestra N para el crecimiento del hongo con un pH de 5,15 en un tiempo de 6 semanas.	106
Tabla 78. Datos de linealización de la muestra N para el crecimiento del hongo con un pH de 5,15 en un tiempo de 6 semanas.	106
Tabla 79. Crecimiento del hongo de la muestra N para el crecimiento del hongo con un pH de 5,15 experimental y calculado.	107

Tabla 80. Datos de crecimiento de la muestra R para el crecimiento del hongo con un pH de 5,15 en un tiempo de 9 semanas.	108
Tabla 81. Datos de linealización de la muestra R para el crecimiento del hongo con un pH de 5,15 en un tiempo de 9 semanas.	109
Tabla 82. Crecimiento del hongo de la muestra R para el crecimiento del hongo con un pH de 5,15 experimental y calculado.	110
Tabla 83. Datos de crecimiento del grupo de muestras para el crecimiento del hongo con un pH de 5,15.	110
Tabla 84. Datos de linealización de la muestra con un pH de 5,15.	111
Tabla 85. Crecimiento del hongo de la muestras del crecimiento del hongo con un pH de 5,15 experimental y calculado	112
Tabla 86. Datos de altura y constante de crecimiento para cada muestra	113
Tabla 87. Resultado de altura y constante de crecimiento para cada grupo de muestras.	113
Tabla 88. Datos de crecimiento, pH y porcentaje de lignina en cada muestra al final del tratamiento con el Hongo Trametes Versicolor.	114
Tabla 89. Datos utilizados para la Estadística del Tratamiento con el Hongo TrametesVersicolor	115
Tabla 90. Resultado del análisis de Varianza y Prueba F para el tratamiento con el hongo Trametes Versicolor	115
Tabla 91. Datos utilizados para la Estadística de la influencia de la lignina en la presencia de azúcares reductores	116
Tabla 92. Resultado del análisis de Varianza y Prueba F para la influencia de la lignina en la presencia de los azúcares reductores.	117

## LISTA DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>
Figura 1. Esquema de una planta de banano	4
Figura 2. Estructura de la celulosa y enlace formado.	6
Figura 3. Segmento de estructura plana de hemicelulosa.	7
Figura 4. Estructura de la lignina.	8
Figura 5. Partes de hongo y de una seta.	10
Figura 6. Ciclo de crecimiento intermitente.	11
Figura 7. Reacción e inhibición enzimática.	15
Figura 8. Mecanismo de hidrólisis enzimática de la celulosa.	19
Figura 9. Formación del complejo enzima-sustrato.	22
Figura 10. Mecanismo de reacción de la fermentación alcohólica.	27
Figura 11. Diseño experimental de para el crecimiento del hongo variando pH y tiempo de crecimiento	30

## LISTA DE GRÁFICOS

	<b>Pág.</b>
Gráfico 1. Crecimiento del hongo vs tiempo de crecimiento de la muestra C a un pH de 7,5	52
Gráfico 2. Curva $(1/Y)$ vs $(1/X)$ .Linealización para la muestra C con pH 7,5.	52
Gráfico 3. Crecimiento del hongo en función del tiempo para la muestra C calculado y teórico pH 7,5.	53
Gráfico 4. Crecimiento del hongo vs tiempo de la muestra F a un pH de 7,5.	54
Gráfico 5. Curva $(1/Y)$ vs $(1/X)$ .Linealización para la muestra F con pH 7,5.	54
Gráfico 6. Crecimiento del hongo en función del tiempo para la muestra F calculado y teórico pH 7,5.	55
Gráfico 7. Crecimiento del hongo vs tiempo de la muestra A pH de 7,5.	56
Gráfico 8. Curva $(1/Y)$ vs $(1/X)$ .Linealización para la muestra A pH 7,5.	57
Gráfico 9. Crecimiento del hongo en función del tiempo para la muestra A calculado y experimental pH 7,5.	58
Gráfico 10. Curva $(1/Y)$ vs $(1/X)$ .Linealización para las muestras con un pH 7,5.	59
Gráfico 11. Crecimiento del hongo vs tiempo de crecimiento de la muestra D con pH 7.	61
Gráfico 12. Curva $(1/Y)$ vs $(1/X)$ .Linealización para la muestra D con pH 7.	61

Gráfico 13. Curva del crecimiento del hongo en función del tiempo para la muestra D teórico y experimental pH 7.	62
Gráfico 14. Crecimiento del hongo vs tiempo de crecimiento de la muestra B con pH 7.	63
Gráfico 15. Curva (1/Y) vs (1/X) .Linealización para la muestra B con pH 7.	64
Gráfico 16. Crecimiento del hongo en función del tiempo para la muestra B calculado y teórico pH 7.	65
Gráfico 17.Crecimiento del hongo vs tiempo de crecimiento de la muestra E con pH 7.	65
Gráfico 18. Curva (1/Y) vs (1/X) .Linealización para la muestras E con un pH 7	66
Gráfico 19. Curva (1/Y) vs (1/X) .Linealización para la muestras con un pH 7.	67
Gráfico 20. Curva (1/Y) vs (1/X) .Linealización para las muestras con un pH 7.	69
Gráfico 21. Crecimiento del hongo vs tiempo de crecimiento para la muestra J pH de 6,63.	70
Gráfico 22. Curva (1/Y) vs (1/X) .Linealización para la muestra J con pH 6,63.	71
Gráfico 23. Crecimiento del hongo en función del tiempo para la muestra J teórico y experimental pH 6,63.	72
Gráfico 24. Crecimiento del hongo vs tiempo de crecimiento de la muestra P con pH 6,63.	73
Gráfico 25. Curva (1/Y) vs (1/X) .Linealización para la muestra P con pH 6,63.	73
Gráfico 26. Crecimiento del hongo en funcion del tiempo para la muestra P calculado y experimental pH 6,63.	74
Gráfico 27. Crecimiento del hongo vs tiempo de crecimiento de la muestra K pH 6,63.	75
Gráfico 26. Curva (1/Y) vs (1/X) .Linealización para la muestra K con pH 6,63.	76
Gráfico 27. Crecimiento del hongo en función del tiempo para la muestra K calculado y experimental pH 6,63.	77
Gráfico 28. Curva (1/Y) vs (1/X) .Linealización para la muestra K con un pH 6,63.	78
Gráfico 29. Crecimiento del hongo en función del tiempo de crecimiento para la muestra K calculado y experimental pH la muestra Ga pH 6,29.	80
Gráfico 30. Curva (1/Y) vs (1/X) .Linealización para las muestras con un pH 6,63.	78
Gráfico 31. Crecimiento del hongo vs tiempo de crecimiento para la muestra G un pH de 6,29.	80
Gráfico 32. Curva (1/Y) vs (1/X) .Linealización para la muestra G con pH 6,29.	81
Gráfico 33. Crecimiento del hongo en función del tiempo para la muestra G calculado y experimental pH 6,29.	82
Gráfico 34. Crecimiento del hongo vs tiempo de crecimiento para la muestra L pH de 6,29.	82
Gráfico 35. Curva (1/Y) vs (1/X) .Linealización para la muestra L con pH 6,29.	83
Gráfico 36. Crecimiento del hongo en función del tiempo para la muestra L calculado y experimental pH 6,29.	84



Gráfico 37. Crecimiento del hongo vs tiempo de crecimiento para la muestra O pH de 6,29.	85
Gráfico 38. Curva $(1/Y)$ vs $(1/X)$ .Linealización para la muestra O con pH 6,29.	85
Gráfico 39. Crecimiento del hongo en función del tiempo para la muestra K calculado y experimental pH 6,29	86
Gráfico 40. Curva $(1/Y)$ vs $(1/X)$ .Linealización para el grupo de muestras con pH 5,7.	88
Gráfico 41. Crecimiento del hongo vs tiempo de crecimiento para la muestra H pH de 5,7.	89
Gráfico 42. Curva $(1/Y)$ vs $(1/X)$ .Linealización para la muestra H con pH 5,7	90
Gráfico 43. Crecimiento del hongo en función del tiempo para la muestra H calculado y experimental pH 5,7.	91
Gráfico 44. Crecimiento del hongo vs tiempo de crecimiento para la muestra M pH de 5,7.	92
Gráfico 45. Curva $(1/Y)$ vs $(1/X)$ .Linealización para la muestra M con pH 5,7.	92
Gráfico 46. Crecimiento del hongo en función del tiempo para la muestra M calculado y experimental pH 5,7.	93
Gráfico 47. Crecimiento del hongo vs tiempo de crecimiento para la muestra Q pH 5,7.	94
Gráfico 48. Curva $(1/Y)$ vs $(1/X)$ .Linealización para la muestra Q con pH 5,7.	95
Gráfico 49. Crecimiento del hongo en función del tiempo para la muestra M calculado y experimental pH 5,7.	96
Gráfico 50. Curva $(1/Y)$ vs $(1/X)$ .Linealización para las muestras con pH 5,7..	97
Gráfico 51. Crecimiento del hongo vs tiempo de crecimiento para la muestra I pH 5,15.	99
Gráfico 52. Curva $(1/Y)$ vs $(1/X)$ .Linealización para las muestras I pH 5,15.	99
Gráfico 53. Crecimiento del hongo en función del tiempo para la muestra I calculado y experimental pH 5,15	100
Gráfico 54. Crecimiento del hongo vs tiempo de crecimiento para la muestra N pH 5,15.	101
Gráfico 55. Curva $(1/Y)$ vs $(1/X)$ .Linealización para la muestras N pH 5,15.	102
Gráfico 56. Crecimiento del hongo en función del tiempo para la muestra N calculado y experimental pH 5,15	103
Gráfico 57. Crecimiento del hongo vs tiempo de crecimiento para la muestra R pH 5,15.	103
Gráfico 58. Curva $(1/Y)$ vs $(1/X)$ .Linealización para la muestra R pH 5,15.	104
Gráfico 59. Crecimiento del hongo en función del tiempo para la muestra R calculado y experimental pH 5,15	105
Gráfico 60. Curva $(1/Y)$ vs $(1/X)$ .Linealización para las muestras pH 5,15.	106
Gráfico 61. Porcentaje de lignina después del tratamiento con el hongo Trametes Versicolor en cada una de las muestras	109
Gráfico 62. Gráfica de azúcares reductores vs %lignina	112

## LISTA DE ANEXOS

	<b>Pág.</b>
ANEXO A.....	122
ANEXO B.....	127
ANEXO C.....	129
ANEXO D.....	130



## HIDROLISIS ENZIMATICA DEL EXCEDENTE ORGANICO DEL BANANO USANDO EL HONGO TRAMETES VERSICOLOR PARA LA OBTENCION DE ETANOL

### RESUMEN

El presente trabajo estudia el proceso de deslignificación de los componentes del sustrato conformado por material residual de la planta de banano, mediante una hidrólisis enzimática utilizando la cepa del hongo *Trametes Versicolor Lloyd*, que produce en su crecimiento la enzima lignina peroxidasas, manganeso peroxidasas y lacasa, está actúa sobre el material ligno-celulósico del plátano y deja expuesta la celulosa, la cual sometida a una posterior hidrólisis enzimática usando enzimas Celulasas se trasforman en pequeñas moléculas de azúcares, que a su vez son fermentandos utilizando *Saccharomyces cerevisiae* da como resultado la producción de alcohol.

Las variables controladas en el crecimiento normal del hongo fueron tres tiempos de crecimiento a seis pH diferentes permitiendo identificar los parámetros que satisfacen un mejor crecimiento que repercute en la degradación de lignina del sustrato y en la posterior obtención de alcohol

Se concluye que los mejores resultados se obtienen en la experimentación realizada a una temperatura de 28 °C, a un pH inicial de siembra de 6,63 a un tiempo de crecimiento de 9 semanas, registrándose 12,43% de lignina final y la producción 30,32 % de alcohol por cada 100 gr de sustrato.

**PALABRAS CLAVES:** /RESIDUO DE BANANO //HONGO TRAMETES VERSICOLOR//HIDROLISIS ENZIMATICA//FERMENTACION//ALCOHOL /

## ENZYMATIC HYDROLYSIS ORGANIC BANANA SURPLUS USING THE FUNGUS TRAMETES VERSICOLOR FOR PRODUCING ETHANOL

### ABSTRACT

This research studies the delignification of the components of residual material substrate comprised of banana plant, by enzymatic hydrolysis using strain of the fungus *Trametes Versicolor* Lloyd, resulting in growth enzyme lignin peroxidase, manganese peroxidase and laccase is acting on the lignocellulosic material and exposes banana pulp, which later subjected to enzymatic hydrolysis using cellulase enzymes are transformed into smaller sugar molecules, which in turn are fermentandos using *Saccharomyces cerevisiae* results in the production alcohol.

The controlled variables in the normal growth of the fungus growth was three times allowing six different pH identify parameters that satisfy better growth which affects lignin degradation of the substrate and the subsequent production of alcohol

We conclude that the best results are obtained in experiments carried out at a temperature of 28 ° C at an initial pH of 6.63 at planting time of 9 weeks growth, registering 12.43% lignin and output end 30.32% of alcohol per 100 g of substrate.

**KEYWORDS:** / WASTE BANANA // FUNGUS *TRAMETES VERSICOLOR* // ENZYMATIC  
HYDROLYSIS // FERMENTATION // ALCOHOL/

## INTRODUCCION

En la actualidad el etanol obtenido de diferentes materias primas de origen vegetal como caña de azúcar, la remolacha y el maíz, se está produciendo como sustituto de la gasolina, para ser usado en los motores de encendido, debido a sus ventajas técnicas, económicas, ambientales y estratégicas ya que posibilita la disminución del consumo de gasolina y por lo tanto de la dependencia energética.

En busca de biomasa que no sea utilizada en la alimentación, se opta por el desperdicio del plátano como lo es raquis, pseudotallo y cáscara que no tienen ningún uso, aparte de ser abono para la misma planta, en un porcentaje muy pequeño. En Ecuador se genera gran cantidad de residuos ligno-celulósicos como resultado del cultivo de banano (ricos en celulosa, hemi-celulosa y lignina) Una planta de banano al momento de su cosecha debe tener un peso promedio de 100 kg los cuales están repartidos en 15 kg de hojas, 50 kg de pseudotallo, 33 kg de banano y 2 kg de raquis. Esto lógicamente indica que el 67% del volumen total de producción lo constituyen los desechos que no aprovecha el hombre sistemáticamente, sino más bien es un foco de contaminación, estos pueden ser empleados en fermentación sólida de hongos productores de enzimas celulasas y como materia prima para producir bioalcohol. El etanol, de origen biomásico se considera un producto biodegradable, libre de azufre; como el carbono en su cadena es de origen vegetal, al ser liberado durante la combustión no contribuye en el balance neto de producción de dióxido de carbono, ya que fue captado con anterioridad previamente por la planta durante su crecimiento. Es decir el dióxido de carbono forma parte de un flujo de circulación natural entre la atmosfera y la vegetación por lo que no representa un incremento en las emisiones, y no contribuye con el efecto en el calentamiento global.

El presente trabajo de investigación tuvo por objetivos hidrolizar enzimáticamente el excedente orgánico del banano, usando el hongo *Trametes Versicolor* para deslignificarlo, se determinó las condiciones optimas de tiempo y pH para la incubación y desarrollo del hongo, con un posterior tratamiento enzimático usando Celulasas se obtuvo azúcares reductores, seguido de una fermentación alcohólica con *saccharomyces cerevisiae*, obteniendo finalmente alcohol. A lo largo del tratamiento con el hongo se cuantificó la cantidad de lignina y celulosa del residuo orgánico de plátano.



El calentamiento global atribuido al consumo de combustibles no renovables, los altos costos, el agotamiento de ellos, la alta contaminación urbana y su alta participación en el sector del transporte, están siendo las fuerzas motivadoras para que en el mundo se estén realizando investigaciones sobre el uso de fuentes alternativas de energía, especialmente aquellas que se derivan del uso de la biomasa como fuente de energía.

En la actualidad se han hecho varios estudios de la obtención de etanol a través de biomasa lignocelulósica de los desechos de plátano mediante procesos de hidrólisis enzimática y ácidos tanto en el Ecuador como en el resto de países bananeros como Colombia y Costa Rica con una eficiencia promedio del 26 % se evalúan varios tipos de enzimas como las *Lentinus Endone*, *kimonas núbiles*, *Lentinus Crinitus* y celulasas pero para la descomposición de la lignina se opta por hidrólisis alcalina causando un impacto ambiental, se usa además sistemas con explosión de vapor para el rompimiento de la lignina pero esto tiene un costo elevado. Por otro lado se tiene conocimiento que para la descomposición de la lignina de la materia lignocelulósica se usa enzimas peroxidasas que se encuentran en varios hongos del tipo de la podredumbre blanca de la madera (*Trametes Versicolor*), lo cual tiene aplicación biotecnológica.

Mientras mayores sean los derivados que se logren obtener de este residuo, se logra disminuir el residuo del plátano y se le da un valor agregado, el presente trabajo muestra la aplicación de la biotecnología para que aplicando a ellos el hongo *Trametes Versicolor* con el fin de degradar la lignina y posterior utilización de enzimas celulasas se pretende reducir estos desperdicios y producir bioetanol.

El mayor rendimiento de etanol fue en el sustrato que desarrollo a un pH de 6,63 , con 39 GL 30,32% de rendimiento de alcohol por cada 100 g de residuo seco.

Mediante este estudio se avizora que existe un potencial uso de los residuos de cultivo de banano como sustratos para la producción de etanol.



## 1. MARCO TEÓRICO

### 1.1 Sustrato

Se puede entender al sustrato como la tierra para las plantas que proporciona los nutrientes necesarios. El sustrato para el hongo debe proporcionar nutrientes específicos requeridos para el crecimiento.

**Tabla 1. Sustratos utilizados en el cultivo del hongo *Trametes Versicolor***

Nutrientes			Sustratos	
Orgánicos	Fuentes de C	Celulosa	Materiales húmicos como madera, paja, hojas, aserrín	
		Hemicelulosa		
	Fuentes de N	Proteína		
		Amino nitrógeno		
Inorgánicos			K, P, Si, Fe, Mg	

Fuente: Cha, D. *et al.*, 1997. Oyster Mushroom–Cultivation Technology and management (in Korean). p.374 [Fecha de consulta: 11 Diciembre 2011]. Disponible en: <  
<http://redalyc.uaemex.mx/.html>. >.

El hongo *Trametes Versicolor* es un hongo de la pudrición blanca que usa lignina y celulosa juntas como la fuente de carbono. Por consiguiente, cualquier tipo de materias orgánicas que contengan lignina y celulosa, pueden usarse como sustratos para estos tipos de hongos y esto incluye casi todos los residuos agrícolas.

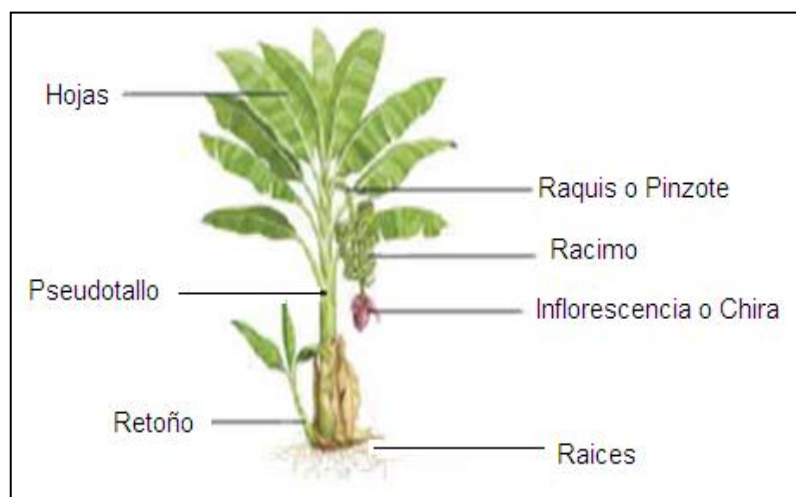
Los sustratos pueden ser cáscara de semilla de girasol, paja de arroz o de trigo, frejol, bagazo de caña de azúcar, aserrín de árbol de laurel, eucalipto, cáscara de maní, residuo de algodón, cáscara de semilla de algodón, aserrín de coco, pulpa de café, papel, residuo de cáscara de cacao, fibra de coco y otros. Los materiales inorgánicos se incluyen normalmente en los materiales del sustrato y no necesitan suplemento adicional en la mezcla [1].

A continuación se describe el sustrato que se va a emplear en el presente estudio.

## 1.2 Planta de plátano

Plátano es una planta monocotiledónea, esto es, al germinar la semilla se produce en ella un solo cotiledón, el plátano pertenece al orden de los ZINZIBERALES, familia Musaceae y género Musa.

**1.2.1 Aspectos botánicos y de cultivo del plátano.** La planta de plátano está conformada por raíz, pseudotallo, raquis, hojas, racimo, e inflorescencia como se describe en la Figura 1.



**Figura 1. Esquema de una planta de plátano.**

La planta es herbácea perenne gigante, con rizoma corto y tallo aparente, que resulta de la unión de las vainas foliares, cónico y de 3,5-7,5 m de altura, terminado en una corona de hojas.

Existen por lo general de siete a nueve hojas grandes y bien desarrolladas antes de que la inflorescencia y el tallo comiencen a crecer. Las hojas son enormes, alargadas y ovales, con nervios abundantes y paralelos, es decir casi en ángulo recto con el nervio central. Mucho antes de que aparezca la inflorescencia van muriendo sucesivamente las hojas más viejas. Los pecíolos se secan y se doblan y la hoja encogida cuelga hacia abajo ocultando a menudo el pseudotallo. Algunos campesinos estiman que las hojas secas prestan protección y sombra al falso tallo (pseudotallo).

El verdadero tallo es un rizoma grande, almidonoso, subterráneo, que está coronado con yemas; éstas se desarrollan una vez que la planta ha florecido y fructificado. A medida que cada chupón del rizoma alcanza la madurez, su yema terminal se convierte en una inflorescencia al ser

empujada hacia arriba desde el interior del suelo por el alargamiento del tallo, hasta que emerge arriba del pseudotallo. Cuando un pseudotallo ha producido el racimo de fruto, ya no vale para nada más, por lo que generalmente se corta y trocea para agregarlo como abono al terreno. [2]

**1.2.2 Manejo de los residuos de plátano.** En el Ecuador se han realizado varios trabajos de investigación y adaptación de tecnologías para la utilización de residuos del cultivo del plátano, como es la producción de prehumus utilizando microorganismos y abono orgánico conocido como Bokashi, fermentado los residuos con microorganismos eficaces, tecnología desarrollado por el doctor Teruo Higa, profesor de agricultura de la Universidad de Ryukyus en Japón.

Hojas y pseudotallos de plátano son fuentes de forraje muy útiles en muchos países tropicales, sobretodo en la época seca. Se pueden triturar y distribuir frescos o se pueden ensilar. El contenido en proteína y minerales es bajo, por lo cual el uso requiere suministrarlos con ingredientes ricos en proteína.

En Ecuador existe la manufactura de productos elaborados artesanalmente de residuos de plátano tales como papel de raquis de plátano, cajas ecológicas. Ecuador es un país bananero que posee alrededor de 180 mil hectáreas de plantaciones de plátano. [3]

**1.2.3 Composición química de los residuos del cultivo de plátano.** A continuación se presenta el análisis proximal de los residuos del cultivo de plátano en base seca.

**Tabla 2. Análisis proximal de los residuos del cultivo de plátano en base seca (100 g)**

<b>Análisis</b>	<b>Hojas (%)</b>	<b>Pseudotallo (%)</b>	<b>Raquis (%)</b>
<b>Humedad</b>	8,40	10,00	8,70
<b>Cenizas</b>	16,10	28,30	23,10
<b>Extracto Etéreo</b>	2,30	9,60	1,50
<b>Proteína cruda</b>	12,30	5,30	3,30

Continuación de la Tabla 2.

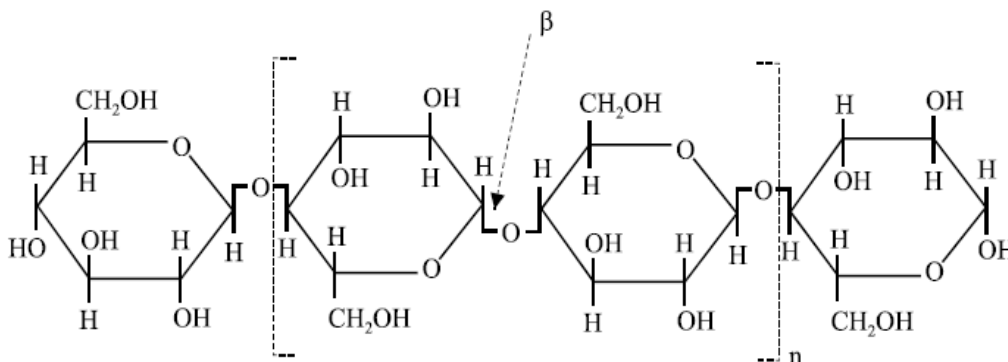
<b>Fibra cruda</b>	<b>34,20</b>	<b>35,30</b>	<b>53,90</b>
--------------------	--------------	--------------	--------------

Fuente: Palacios, A. 2007. “Utilización de residuos agroindustriales de la costa en la obtención de setas *Pleurotus ostreatus* var. florida y *Pleurotus pulmonarius* var. florida”. Tesis Ing, Alim. Universidad Técnica de Ambato-FCIAL, Ecuador. p.93. Humedad del sustrato en base seca.

#### ***1.2.4. Constituyentes de los residuos lignocelulósicos del plátano.***

**1.2.4.1. Celulosa.** La celulosa que es el biopolímero de D-glucosa, es el material orgánico más abundante sobre la corteza terrestre (Montoya, S. 2008). La celulosa es además la forma más común de encontrar el carbono de la biomasa (Romero, M. et al., 2009). Las plantas sintetizan la celulosa como material estructural para soportar su peso. Las moléculas largas de celulosa llamadas microfibrillas, forman haces por los puentes de hidrógeno que se crean entre los numerosos grupos-OH de los anillos de glucosa.

En la celulosa las unidades de D-glucosa están unidas por enlaces glicosídicos  $\beta$ -1,4, disposición bastante rígida y muy estable. En la Figura 2, se muestra una estructura parcial de la celulosa. La longitud del polímero es altamente variable y dependiente del organismo del cual la celulosa haya sido obtenida, así como de la edad y estado metabólico al momento de la extracción.



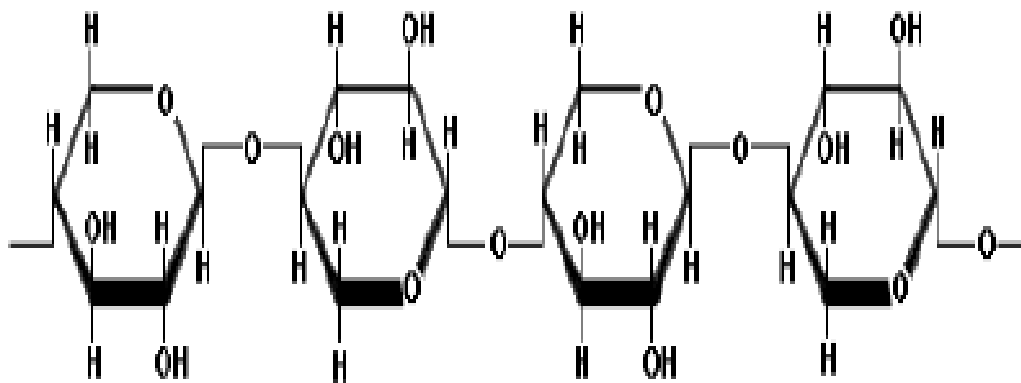
**Figura 2. Estructura de la celulosa y enlace formado.**

Fuente: TAIZ, Lincoln y ZEIGER, Eduardo. Fisiología vegetal 1. Universitat Jaume I. 2006. p 49.

Se consideran dos tipos de celulosa: la nativa o cristalina, caracterizada por un alto grado de cristalinidad u ordenamiento y de polimerización, resultando así insoluble (ej.: avicel, fibras de algodón, papel de filtro, etc.); y la celulosa modificada, la cual resulta soluble como la celulosa amorfa, carboximetilcelulosa, celooligosacáridos, en las cuales el grado de cristalinidad y el grado de polimerización es menor.

**1.2.4.2 Hemicelulosa.** En contraste con la celulosa, la cual es cristalina, fuerte y resistente a la hidrólisis, las hemicelulosas son estructuras aleatorias, amorfas con pequeña solidez, fácilmente hidrolizables en ácidos o bases diluídos. Las hemicelulosas son plímeros de diversas hexosas y pentosas, principalmente D-xilosa, L-arabinosa, D-manosa, D-glucosa, D-galactosa, y ácido D-galacturónico, que aparecen en las paredes celulares en forma amorfa.

La mayoría de las hemicelulosas ocurre como heteropolisacáridos, poseen una especie de columna vertebral formada por una cadena plana de azúcares unidos casi siempre por enlaces  $\beta$ -1,4 (de menor longitud que la de celulosa), ver Figura 3. De la que pueden salir ramificaciones muy cortas, generalmente de un solo azúcar de longitud. Se clasifican usualmente de acuerdo a los azúcares residuales presentes. Los tipos y cantidades de hemicelulosa presentes en las paredes de las maderas de angiospermas y coníferas son diferentes.

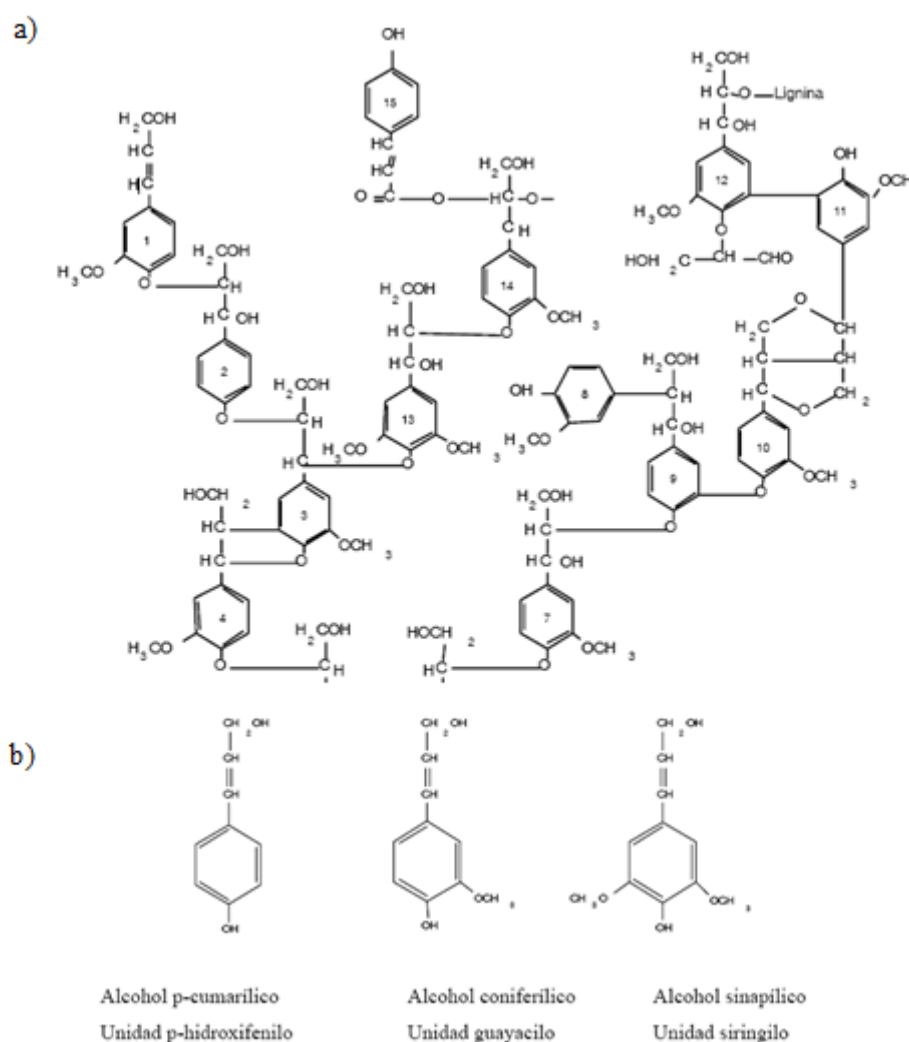


**Figura 3. Segmento de estructura plana de hemicelulosa.**

Fuente:TAIZ, Lincoln y ZEIGER, Eduardo. Fisiología vegetal. 1. Universitat Jaume I. 2006. p. 50.

Las hemicelulosas cubren y unen a la microfibrillas de celulosa en una matriz común. La corta extensión de las cadenas incrementa la solubilidad de las hemicelulosas y la posición expuesta de las mismas en la superficie de las microfibrillas, explicaría porque este polímero está entre los primeros componentes de la pared celular atacados por los hongos causantes de pudrición.

**1.2.4.3 Lignina.** Es la tercera fracción mayoritaria de la biomasa lignocelulósica. Se trata de un polímero tridimensional amorfo formado por la polimerización deshidrogenativa unidades de fenilpropano ligadas por diferentes tipos de enlaces que se alternan de manera desordenada, es el polímero aromático no polisacárido más abundante de la naturaleza. Los monómeros que forman la lignina son los denominados alcoholes cinamílicos, diferenciados entre sí por las diferentes sustituciones que presenta el anillo aromático. Es un compuesto insoluble en agua y amorfo, de alto peso molecular, tridimensional. En la Figura 4, se puede observar su estructura. La lignina imparte resistencia a la degradación microbiana de la madera. La íntima asociación espacial existente entre los polisacáridos y la lignina dentro de las paredes celulares de la madera provee una barrera protectora que impide la degradación de la celulosa.



**Figura 4. a) Estructura de la lignina. b) Alcoholes cinamílicos precursores de la lignina.**

Fuente: TAIZ, Lincoln y ZEIGER, Eduardo. Fisiología vegetal. 1. Universitat Jaume I. 2006. p.51.

La proporción de las tres unidades que forman la lignina y el tipo de enlace difiere según el tipo de planta, así como del grupo taxonómico, tejido o capa de la pared celular, estado de desarrollo y condiciones ambientales. Así, se puede hacer una diferenciación de la lignina dependiendo del grupo taxonómico. La lignina de gimnospermas (maderas blandas), está formada mayoritariamente por unidades de tipo guayacilo, mientras que la lignina de las angiospermas leñosas (maderas duras) está formada por unidades guayacilo y siringilo. Esta alta proporción de unidades derivadas del alcohol sinapílico en las maderas duras determina la estructura y características de este tipo de lignina, ya que la presencia de los dos grupos metoxilo en posiciones 3 y 5 del anillo aromático reduce la formación de enlaces tipo eter y sobre todo los enlaces C-C, lo que se traduce en una reducción del grado de polimerización y en un menor grado de condensación. De esta forma las maderas duras son más fáciles de deslignificar que las maderas blandas.

**1.2.4.4 Otras sustancias.** No forman parte de la estructura de la pared vegetal, y la mayoría son solubles en solventes neutros.

Los componentes solubles en solventes neutros, representan entre el 4-10% del peso seco de la madera. Hay una gran variedad de compuestos orgánicos, grasas, ceras, alcaloides, proteínas, fenoles simples y complejos, azúcares simples, pectinas, mucílagos, gomas, resinas, terpenos, etc. Actúan como intermediarios metabólicos, reserva de energía o parte de los mecanismos de defensa contra los ataques microbianos.

Contribuyen al color, olor y resistencia al marchitamiento. Las cenizas, son residuos inorgánicos que permanecen después de quemar la biomasa a altas temperaturas, suelen ser menos del 2% de peso seco de la madera. [4]

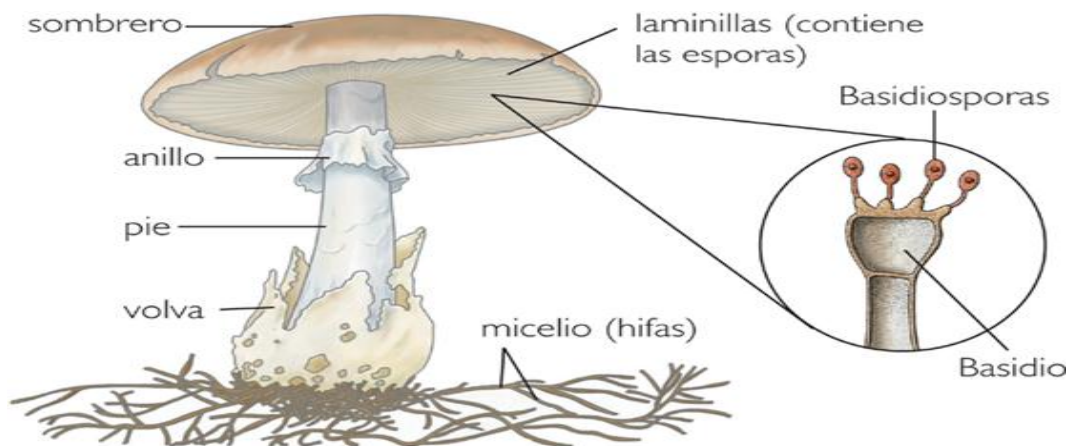
## **1.2 Hongos**

Como “hongos” se designa a un grupo de organismos eucariotas entre los que se encuentran los mohos, las levaduras y las setas. Se clasifican en un reino distinto al de las plantas, animales y bacterias. Esta diferenciación se debe, entre otras cosas, a que poseen paredes celulares compuestas por quitina, a diferencia de las plantas, que contienen celulosa.

Los hongos constituyen un grupo muy numeroso de organismos (se han descrito aproximadamente 500.000, pero se estima que pueden existir entre 1 y 1,5 millones de especies) que presentan una amplia distribución en la naturaleza, contribuyendo a la descomposición de la materia orgánica y participando en los ciclos biológicos.

En el hongo hay que diferenciar dos partes fundamentales: el cuerpo vegetativo y el cuerpo reproductor. El cuerpo vegetativo, que se encuentra bajo el suelo, está formado por unos filamentos llamados hifas que pueden ser unicelulares (con sucesión de núcleos). Al conjunto de todas las hifas es a lo que se le llama micelio. El micelio es el que se encarga de absorber las sustancias minerales del suelo para alimento del hongo.

El micelio en realidad es el hongo, ya que la seta (a la que comúnmente se la llama hongo), es su aparato reproductor. En la Figura 5 se describe gráficamente las partes de un hongo. Los micelios reproductores crecen hacia la superficie externa del medio y son los encargados de formar los Organismos reproductores (endosporios) para la formación de nuevos micelios. Los micelios vegetativos se encargan de la absorción de nutrientes, crecen hacia abajo, para cumplir su función.[5]



**Figura 5. Partes de hongo y de una seta**

**1.3.1 Cinética de crecimiento.** La microbiología comprende el estudio de una amplia variedad de sistemas vivos “inferiores” que incluyen virus, bacterias, algas, hongos simples como las levaduras y mohos así como los hongos superiores altamente diferenciados más grandes como las “setas”. El crecimiento se puede considerar como el aumento ordenado de todos los constituyentes químicos de un organismo, lo cual para los organismos unicelulares conduce a un aumento en el número de individuos en la población. El cultivo por lotes o intermitente representa un sistema cerrado puesto que no se añade medio de cultivo nuevo.

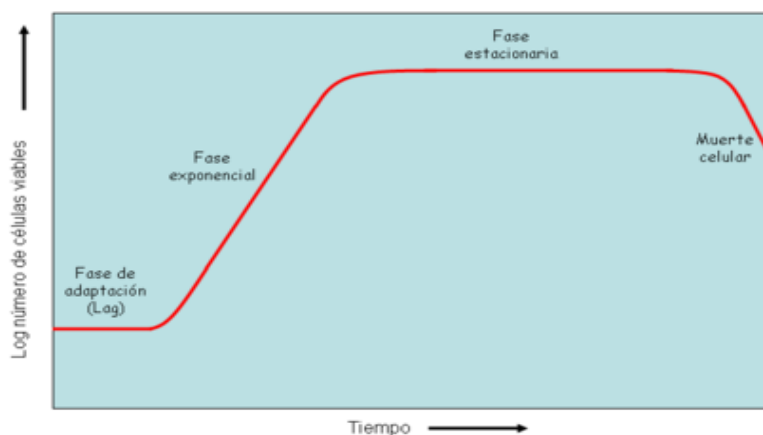
**Fase de adaptación.-** representa el periodo de adaptación en un medio nuevo y significa la síntesis de las enzimas para la evolución en este medio.



**Fase exponencial.-** es la fase de crecimiento equilibrado en donde la síntesis de todos los nutrientes celulares aumenta a una velocidad constante de modo que la población de células se duplican y continua duplicándose a intervalos regulares.

**Fase estacionaria.-** esta fase se caracteriza por ningún crecimiento neto, de hecho el crecimiento puede estar ocurriendo, pero esta equilibrado por la rapidez de muerte o lisis celular. Las células pueden permanecer viables como resultado de la disminución de algún nutriente esencial, la formación de productos tóxicos o de un cambio físico en el medio.

**Fase de muerte celular.-** Es una fase de declinación, durante este periodo la fase de desaparición puede volverse mas alta que la rapidez de crecimiento, en cuyo caso disminuye la densidad de las células. [6]



**Figura 6. Ciclo de crecimiento intermitente.**

Fuente: SCRAGG, Alan. "Biotecnología para ingenieros, sistemas Biologicos en procesos tecnológicos". Editorial Limusa,Mexico DF, 1997.

### **1.3.2 Hongo *Trametes Versicolor*.**

#### **1.3.2.1 Taxonomía.**

- **Ordenación taxonómica:**

- Subdivisión: *Basidiomycotina*
- Clase: *Homobasidiomycetes*
- Subclase: *Aphyllphoromycetidae*
- Orden: *Poriales*
- Familia: *Coriolaceae* hongos de la pudrición blanca de la madera.

- **Sinónimos.** Cola de pato.
- **Características macroscópicas.** Carpóforo anual sésil no estipitado o pseudoestipitado, pero por lo general saliente, no resupinado, con un tamaño que llega a los 10 cm de ancho, con un radio de unos 5 cm aproximadamente, y cuyo grosor es apenas de unos milímetros. Tiene forma semicircular o de abanico, abriéndose a partir del sustrato, y salen siempre en grupos más o menos numerosos e imbricados. Tiene múltiples colores dispuestos por la superficie de forma concéntrica, desde tonos claros casi blancos hasta prácticamente negros, pasando por tonos marrones o grises de distintos matices.

Su superficie es vellosa en los especímenes jóvenes, quedando glabra posteriormente, y el borde se presenta ondulado de manera irregular. Himenio formado por poros de pequeño tamaño, hasta 5 por mm, generalmente redondeados, a veces un poco angulosos, de color blanco, cremas con el tiempo. Pie muy corto y enterrado en el sustrato o inexistente, por lo que consideramos a esta especie como sésil.

Carne muy dura de color blanco, coriácea y fibrosa. En la zona de unión con el sustrato puede llegar a alcanzar un grosor de unos 5 mm, pero en el borde apenas alcanza los 2. Sin olor o sabor dignos de mención.

Por pertenecer al grupo Basidiomycota tiene un gran impacto en el funcionamiento los ecosistemas, particularmente terrestres. Así, los basidiomycetes juegan un papel significativo en el ciclo de carbón, mediante la degradación de polímeros presentes en los restos vegetales, principalmente la celulosa y la lignina, que son los polímeros vegetales más abundantes.

**1.3.2.2 Hábitat.** Es una especie que fructifica sobre madera de árboles planifolios, coníferas, e incluso sobre algunos frutales, provocando en el árbol una podredumbre blanca. Es un hongo muy frecuente y extendido que puede hacer acto de aparición en cualquier época del año si las condiciones ambientales son adecuadas. [7]

**1.3.2.3 Hongo de la pudrición blanca.** Ocurre cuando los microorganismos que atacan a la madera degradan profunda y completamente los componentes ligno-celulósicos. Gracias a los estudios realizados en el siglo xx, actualmente se conoce que los hongos de la pudrición blanca están implicados en la degradación de la mayoría de estructuras químicas que componen la madera incluyendo la celulosa, aunque la lignina es el principal compuesto degradado, por tal razón la madera toma una apariencia blanquecina, húmeda, blanda esponjosa y en condiciones avanzadas la madera se debilita notablemente.

La apariencia de la madera con pudrición blanca es fibrosa, debido a que la parte de la celulosa permanece intacta hasta etapas tardías del proceso. Usualmente la madera se vuelve blanquecina debido al blanqueamiento producido por la oxidación a la pérdida de lignina.

Cuando los hongos atacan la madera e invaden sus células para obtener alimento metabolizando los constituyentes de estas, la madera sufre una serie de cambios en sus propiedades que afectan su uso posterior, estos cambios son evidenciados por la pérdida de fuerza la cual es proporcional a la pérdida de peso y no ocurren cambios apreciables en los componentes de la pared, se ha demostrado que la madera que ha perdido el 1% de su peso a causa de su descomposición generalmente pierde un 50% de su fuerza. El hongo *Trametes Versicolor* hace gran uso del nitrógeno cuando crece, en condiciones deficientes de nitrógeno este puede utilizar al este compuesto, especialmente para producir enzimas extracelulares y componentes esenciales de la célula, del mismo modo recicla el nitrógeno en su micelio.

Una característica morfológica común de los hongos de la pudrición de la madera es la presencia de capas extracelulares (envolturas hifales (que están compuestas de extensas estructuras de membranas y  $\beta$  1,6-1 3 glucanos. Esta matriz probablemente juega un papel importante en la degradación, por su función específica aun no se conoce. Se han identificado enzimas hidrolíticas que incluyen glucanasas, glucosidasas, enzimas oxidativa y una enzima oxidoreductasa (celobiosa, deshidrogenasa).

La pudrición empieza cuando la hifa o el hongo de la pudrición penetra la madera iniciando la colonización y libera las enzimas, en esta fase de colonización el daño es limitado y aún no hay evidencias visibles, se llama incipiente esta etapa. A medida que se desarrolla el proceso de la pudrición aparecen pequeños cambios en el color y en la textura de la madera, y pueden aparecer fibras quebradizas, estos cambios constituyen la fase temprana, cuando la pudrición es detectable, pero no obvia. A medida que el proceso de pudrición continúa a la fase inmediata, hay evidentes cambios de color en la textura de la madera, pero el grosor de la estructura permanece intacto. La fase tardía es cuando hay rompimiento total de la estructura de la madera y la madera residual se vuelve blancuzca y de mala calidad. De acuerdo con esto los hongos de la pudrición blanca son los únicos microorganismos capaces de despolimerizar y metabolizar la lignina.

### ***1.3.3 Actividad enzimática del hongo.***

La lignina confiere una protección física a la celulosa y hemi-celulosa, aunque la lignina tiene un alto contenido de energía más alto que los carbohidratos, las enzimas no pueden utilizar la lignina como fuente de carbono y energía, la degradación de la lignina es prerequisite para poder acceder a los carbohidratos presentes en la pared celular y utilizarlos como fuente de carbono y

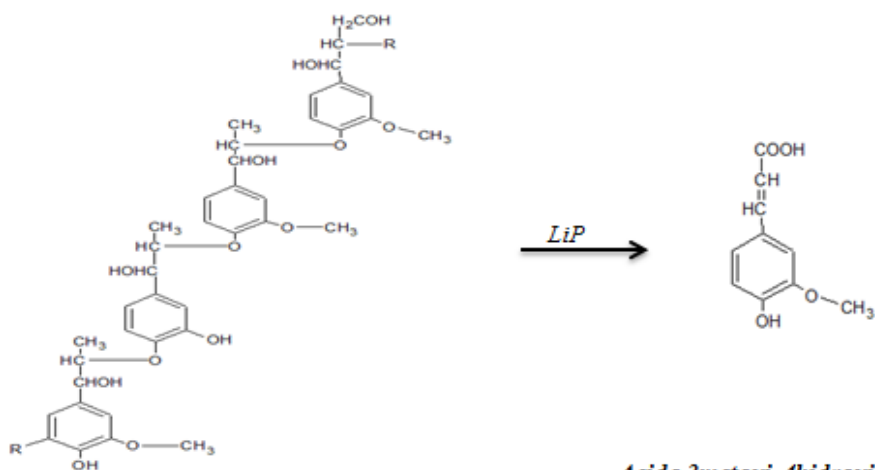
energía mediante un complejo de enzimas oxidasas y peroxidasas que catalizan las primeras reacciones que rompen la compleja molécula de lignina, generando moléculas más pequeñas, luego hay una incorporación de estos productos de degradación a los ciclos metabólicos de los organismo que dan como producto final CO<sub>2</sub>.

La producción de enzimas lignolíticas en los hongos de la pudrición blanca como principales degradadores de la manera dependen de factores controlados como: humedad, temperatura y calidad del sustrato. La interdependencia de estos factores es compleja y aún no se conoce cual de estos factores pesa más en el desarrollo del hongo.

La enzima lignolítica actúa efectivamente sobre el sustrato, tienen una alta relación carbono/hidrógeno, la expresión de estas enzimas también se encuentran condicionadas por nutrientes como nitrógeno, manganeso y cobre. La habilidad de degradar la lignina depende de varias enzimas las mas importantes son la lignina peroxidasas, manganeso peroxidasas y lacasa dependiendo de la especie y del sustrato sin embargo la mayoría de los hongos de la pudrición blanca posee la enzima lacasa.

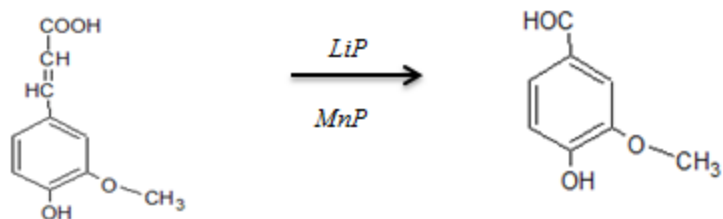
La vía metabólica realizada por varios hongos de la podredumbre blanca, inicia por la medicación de la enzima lignina peroxidasas, la cual rompe enlaces C-C o enlaces éter (C-O-C) de la cadena del complejo formando en algunos casos monolignoles como el ácido ferúlico, que luego por la acción de las enzimas peroxidasas y manganeso peroxidasas pasa a vainillina. Además los monolignoles pueden generar dilignoles u oligolignoles sobre los cuales actúa de nuevo la enzima lignina peroxidasas rompiendo los enlaces éter para dar origen a nuevos monolignoles entre los cuales se encuentra el alcohol coniferílico, que al oxidarse forma coniferil aldehído, que al oxidarse forma ácido 3-metoxi-4 hidroxifenil pirúvico. Cada una de estas dos moléculas al sufrir una descarboxilación oxidativa, da origen a una molécula de vainillina, la cual sufre una nueva descarboxilación oxidativa, convirtiéndose en ácido vainillínico.

Sobre esta molécula actúa la enzima lacasa realizando un proceso de dimetilación para dar origen al ácido protocatéquico. Este al sufrir una oxidación mediada por la lignina peroxidasas y oxigenasas pasa a oxiadípico. El ácido β oxiadípico a su vez sufre una hidrolisis que rompe los enlaces C-C para formar ácido acético el cual entra al ciclo de los ácidos tricarboxílicos convirtiéndose en acetil como producto final de este ciclo CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O. [8]



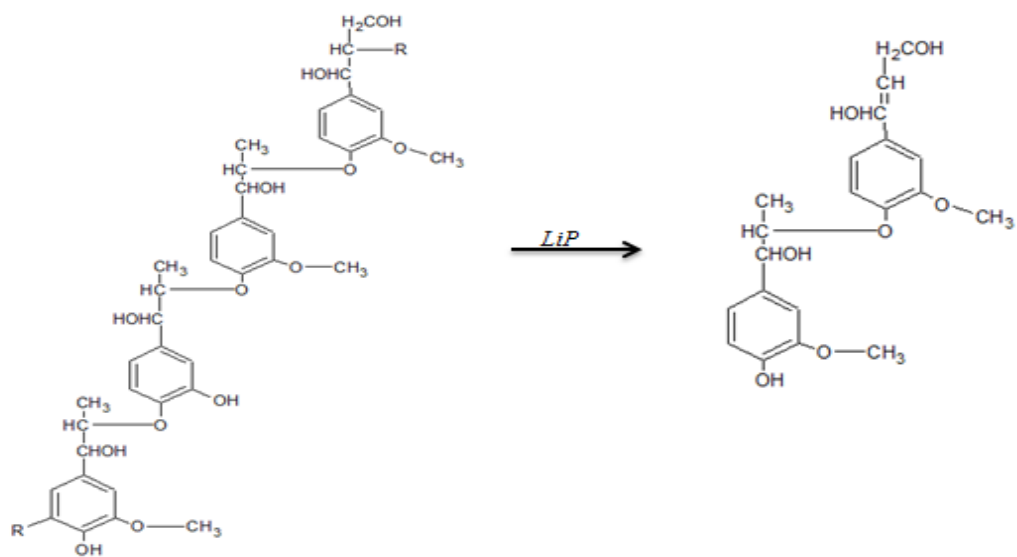
*Lignina*

*Ácido 3metoxi, 4hidroxi fenil pirúvico.  
(Acido ferúlico)*



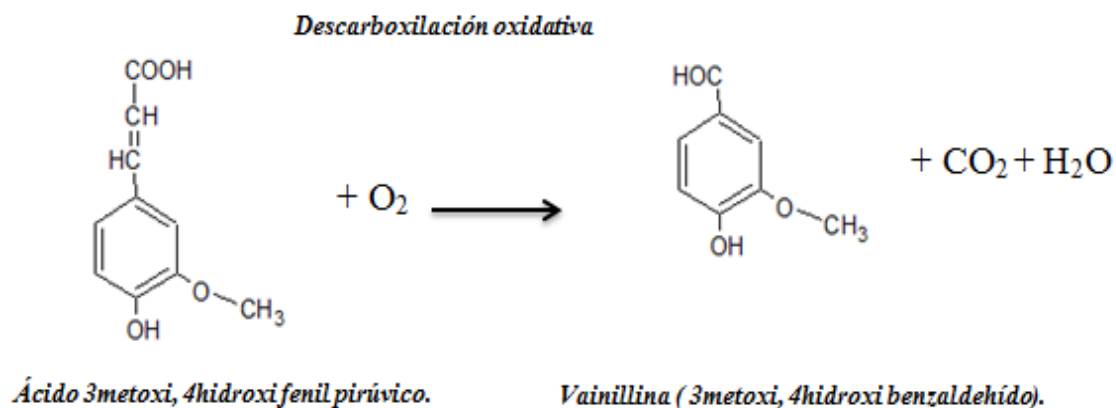
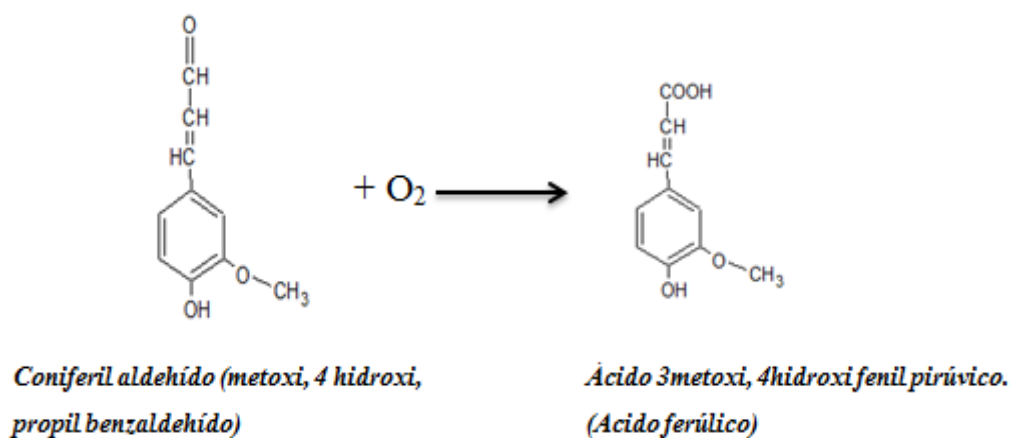
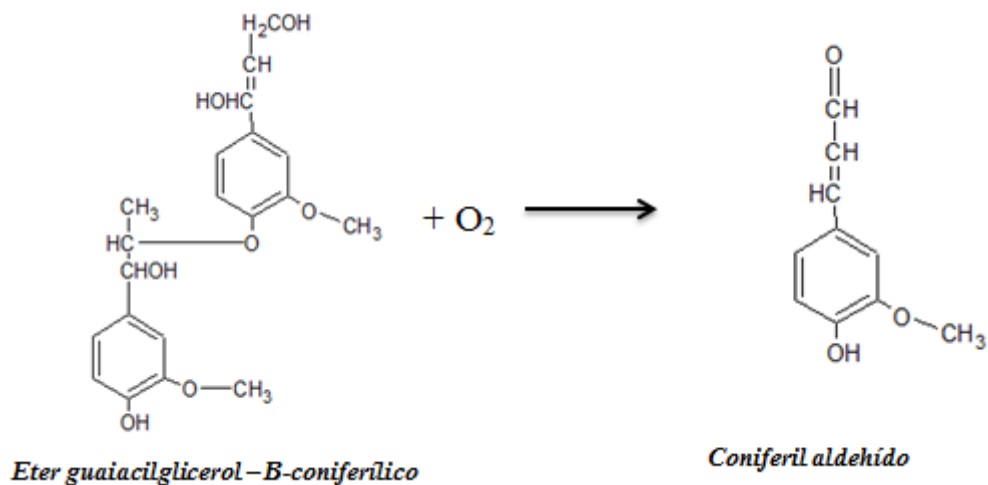
*Ácido 3metoxi, 4hidroxi fenil  
pirúvico. (Acido ferúlico)*

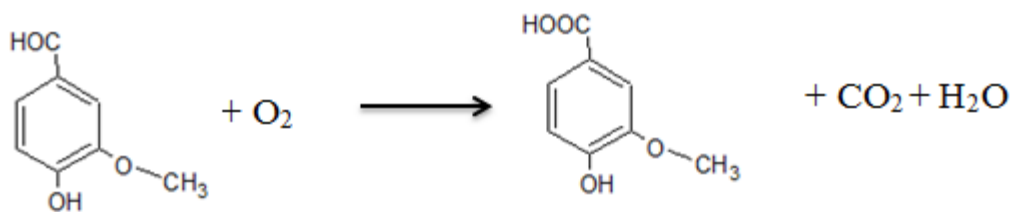
*Vainillina (3 metoxi.4hidorxibenzaldehido)*



*Lignina*

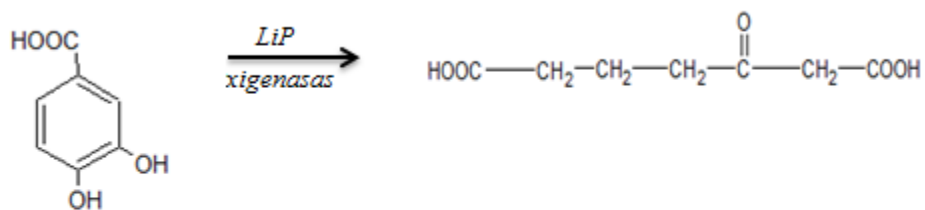
*Eter guaiacilglicerol – B-coniferilico*





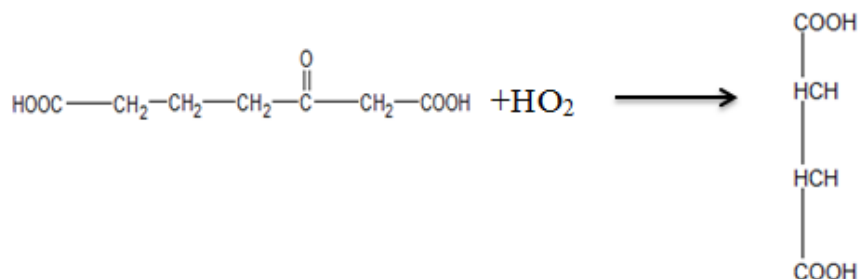
*Vainillina (3 metoxi.4hidorxibenzaldehído)*

*Ácido Vainillínico*



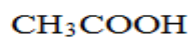
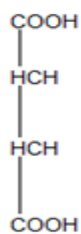
*Ácido Protocatéquico*

*Ácido B Oxiadípico (Pentano, 3 oxi,1,6dicarboxílico)*



*Ácido B Oxiadípico (Pentano, 3 oxi, 1-6dicarboxílico)*

*Acido B Oxiadípico (Pentano, 3 oxi, 1-6dicarboxílico)*



*Acido B Oxiadípico (Pentano, 3 oxi, 1-6dicarboxílico)*

*Ácido acético*



## 1.4 Enzimas

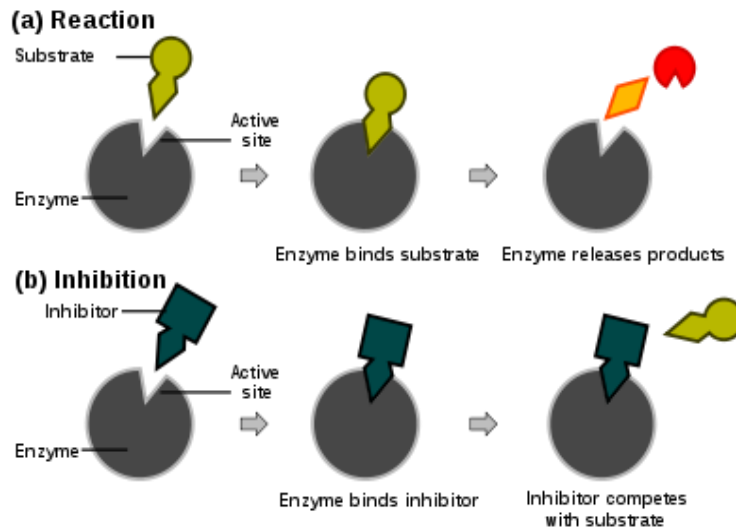
**1.4.1 Generalidades.** Los enzimas son una gran y única clase de moléculas proteicas que actúan como catalizadores biológicos, al catalizar todas las reacciones del metabolismo celular, y proporcionar los medios para que se realicen funciones complejas tales como la síntesis de material genético, de polímeros estructurales y de otras sustancias.

Las enzimas consisten en cadenas de L-aminoácidos unidos covalentemente en una secuencia definida, denominada estructura primaria, y enrollados en forma compleja, en una estructura zwitteriónica y con un centro activo, formado por relativamente pocos aminoácidos que son los responsables directos de la unión con el sustrato y que catalizan la reacción característica de cada tipo particular de enzima.

Como todos los catalizadores, las enzimas funcionan disminuyendo la energía de activación ( $\Delta G^\ddagger$ ) de una reacción, de forma que se acelera sustancialmente la tasa de reacción. Las enzimas no alteran el balance energético de las reacciones en que intervienen, ni modifican, el equilibrio de la reacción, pero consiguen acelerar el proceso incluso millones de veces. Una reacción que se produce bajo el control de una enzima, o de un catalizador en general, alcanza el equilibrio mucho más deprisa que la correspondiente reacción no catalizada. Al igual que ocurre con otros catalizadores, las enzimas no son consumidas por las reacciones que catalizan, ni alteran su equilibrio químico. Sin embargo, las enzimas difieren de otros catalizadores por ser más específicas.

La actividad de las enzimas puede ser afectada por otras moléculas. Los inhibidores enzimáticos son moléculas que disminuyen o impiden la actividad de las enzimas, mientras que los activadores son moléculas que incrementan dicha actividad. Igualmente, la actividad es afectada por la temperatura, el pH, la concentración de la propia enzima y del sustrato, y otros factores físico-químicos.





**Figura 7. Reacción e Inhibición enzimática.**

**1.4.2 Clasificación.** El nombre de una enzima suele derivarse del sustrato o de la reacción química que cataliza, con la palabra terminada en -asa. Por ejemplo, lactasa proviene de su sustrato lactosa. A continuación se indican las seis grandes clases de enzimas existentes en la actualidad:

**1.4.2.1 Oxidorreductasas:** catalizan reacciones de oxido reducción o redox. *Ejemplos:* deshidrogenasas, peroxidasas.

**1.4.2.2 Transferasas:** transfieren grupos activos (obtenidos de la ruptura de ciertas moléculas) a otras sustancias receptoras. Suelen actuar en procesos de interconversión de monosacáridos, aminoácidos, etc. *Ejemplos:* transaminasas, quinasas.

**1.4.2.3 Hidrolasas:** catalizan reacciones de hidrólisis con la consiguiente obtención de monómeros a partir de polímeros. La palabra *hidrólisis* se deriva de *hidro* → 'agua' y *lisis* → 'disolución'. *Ejemplos:* glucosidasas, lipasas, esterases.

**1.4.2.4 Liasas:** catalizan reacciones en las que se eliminan grupos  $H_2O$ ,  $CO_2$  y  $NH_3$  para formar un doble enlace o añadirse a un doble enlace. *Ejemplos:* descarboxilasas, liasas.

**1.4.2.5 Isomerasas:** actúan sobre determinadas moléculas obteniendo o cambiando de ellas sus isómeros funcionales o de posición, es decir, catalizan la racemización y cambios de posición de un grupo en determinada molécula obteniendo formas isoméricas. Suelen actuar en procesos de interconversión. *Ejemplo:* epimerasas (mutasa).

**1.4.2.6 Ligasas:** catalizan la degradación o síntesis de los enlaces denominados "fuertes" mediante el acoplamiento a moléculas de alto valor energético como el ATP. *Ejemplos:* sintetasas, carboxilasas.

**1.4.3 Mecanismos de Reacción.** Las enzimas pueden actuar de diversas formas, aunque, como se verá a continuación, siempre dando lugar a una disminución del valor de  $\Delta G^\ddagger$ . Reducción de la energía ]de activación mediante la creación de un ambiente en el cual el estado de transición es estabilizado (por ejemplo, forzando la forma de un sustrato: la enzima produce un cambio de conformación del sustrato unido el cual pasa a un estado de transición, de modo que ve reducida la cantidad de energía que precisa para completar la transición).

Reduciendo la energía del estado de transición, sin afectar la forma del sustrato, mediante la creación de un ambiente con una distribución de carga óptima para que se genere dicho estado de transición.

Proporcionando una ruta alternativa. Por ejemplo, reaccionando temporalmente con el sustrato para formar un complejo intermedio enzima/sustrato (ES), que no sería factible en ausencia de enzima.

Reduciendo la variación de entropía necesaria para alcanzar el estado de transición (energía de activación) de la reacción mediante la acción de orientar correctamente los sustratos, favoreciendo así que se produzca dicha reacción. Incrementando la velocidad de la enzima mediante un aumento de temperatura. El incremento de temperatura facilita la acción de la enzima y permite que se incremente su velocidad de reacción. Sin embargo, si la temperatura se eleva demasiado, la conformación estructural de la enzima puede verse afectada, reduciendo así su velocidad de reacción, y sólo recuperando su actividad óptima cuando la temperatura se reduce. No obstante, algunas enzimas son termolábiles y trabajan mejor a bajas temperaturas.

**1.4.4 Cofactores.** No todos los enzimas son capaces de actuar solos, y muchos requieren la presencia de cofactores no proteicos para que su actividad catalítica se manifieste. Tales cofactores, que son en realidad cosustratos porque experimentan una transformación química durante la reacción, incluyen desde iones metálicos simples hasta moléculas orgánicas.

**1.4.5 Rasgos característicos de los enzimas como catalizadores.** Los enzimas son catalizadores muy potentes en cuatro aspectos:

Son muy eficaces catalizando reacciones frecuentemente  $10^8 - 10^{11}$  veces más rápidas que los

catalizadores no enzimáticos correspondientes. Estas velocidades pueden alcanzarse incluso aunque las reacciones catalizadas por enzimas requieran condiciones mucho menos extremas de temperatura, pH y presión, y las reacciones se produzcan en el solvente más barato, seguro y abundante, el agua.

El rango de las reacciones catalizadas es extremadamente amplio, pudiéndose catalizar muchos más tipos de reacciones que con los catalizadores químicos.

Los enzimas son muy específicos en cuanto al tipo de reacción catalizada, los enzimas pueden ser específicas para las estructuras del sustrato y el producto formados, lo que da lugar a rendimientos más altos y potencialmente a menos contaminantes producidos por reacciones laterales. Esta especificidad es impresionante puesto que la mayoría de las moléculas de sustrato tienen potencialmente varias posibilidades reactivas y se debe a la capacidad del enzima para unirse al sustrato y organizar los grupos reactivos para que favorezcan particularmente un estado de transición específico.

Los enzimas están sujetos naturalmente a un número de controles tanto groseros, como el de la velocidad de síntesis y degradación, como finos, por ejemplo, modelando su actividad por la unión a pequeñas moléculas modificadoras que pueden aumentar o disminuir la actividad de las enzimas.[9]

**1.4.6 Centro Activo.** Casi todas las enzimas son mucho más grandes que los sustratos sobre los que actúan, y solo una pequeña parte de la enzima (alrededor de tres a cuatro aminoácidos) está directamente involucrada en la catálisis. La región que contiene estos residuos encargados de catalizar la reacción es denominada centro activo.

El sitio o centro activo es la zona de la enzima a la que se une el sustrato para ser catalizado. La estructura tridimensional de éste es lo que determina la especificidad de las enzimas. En el sitio activo sólo puede entrar un determinado sustrato (ni siquiera sus isómeros).[10]

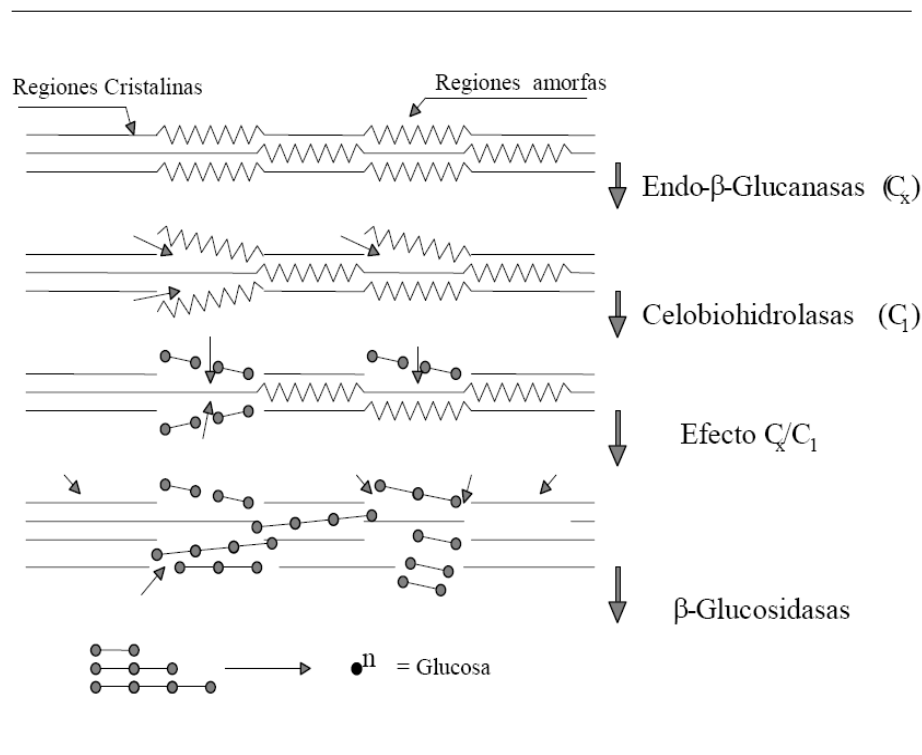
**1.4.7 Enzimas celulasas.** Las enzimas son proteínas que catalizan reacciones químicas en los seres vivos. Como catalizadores, las enzimas actúan en pequeña cantidad. No llevan a cabo reacciones que sean energéticamente desfavorables, no modifican el sentido de los equilibrios químicos, sino que aceleran su consecución.

Las enzimas celulasas son proteínas derivadas de los procesos naturales de fermentación, capaces de degradar la celulosa. En realidad una enzima de celulasas es una mezcla de diversos componentes enzimáticos, formando lo que se denomina un “complejo enzimático”, que actúa de

forma sinérgica en la degradación de la celulosa. Este complejo enzimático está formado por tres tipos de enzimas:

- Endoglucanasas (EGs) o endocelulasas ( $\beta$ -1,4-D-glucan 4-glucanohidrolasa), las cuales atacan las regiones de baja cristalinidad en la fibra celulósica, creando cadenas terminales libres.
- Celobiohidrolasas (CBHs) o exocelulasas ( $\beta$ -1,4-D-glucan 4-celobiohidrolasa) y las cuales degradan la molécula adicional por eliminación de las unidades de celobiosa de las cadenas terminales libres.
- $\beta$ -glucosidasa (BGs) o celobiasa ( $\beta$ -D-glucósido glucohidrolasa), la cual hidroliza la celobiosa para producir glucosa (Carrillo, F. 2002; Romano, D., *et al.*, 2005). La Figura 6, se observa este mecanismo.

Este complejo de proteínas de origen enzimático, en conjunto logran la degradación de la celulosa (polímero de alta complejidad), en monómeros de baja complejidad como la glucosa, con el fin de metabolizarla y cumplir así con funciones vitales (Bioinformática de celulasas).



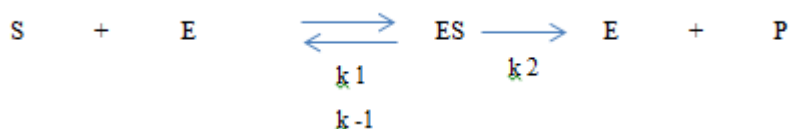
**Figura 8. Mecanismo de hidrólisis enzimática de la celulosa**

En adición a los tres grupos principales de enzimas celulosas, existen también un número de enzimas auxiliares que atacan la hemicelulosa, tales como glucuronidasas, acetilesterasas, xilanasas,  $\beta$ -xilosidasas, galactomannanasas y glucomannanasas.[11]

### 1.5 Cinética enzimática.

La actividad de una enzima se determina a partir de la concentración del enzima, la concentración del sustrato y su disponibilidad, la concentración de los cofactores y/o los efectores alostéricos, la presencia, concentración y tipo de inhibidores, y la fuerza iónica, el pH y la temperatura del medio. La cinética enzimática estudia la forma en que estos parámetros influyen en la actividad enzimática, proporcionándonos un conocimiento de la reacción en estudio y permitiéndonos su control.

Para un único sustrato (S) y un único producto (P) se puede aplicar el siguiente esquema de reacción.



Cuando la concentración del sustrato es mucha mayor que la de la enzima [E], la velocidad de reacción es de orden cero respecto a los reactantes, es decir, depende solamente de la concentración de enzima presente. Por tanto la velocidad de reacción es esencialmente constante hasta que haya reaccionado casi todo el sustrato, momento en que pasa a depender de la concentración de sustrato existente y es de primer orden con respecto a la concentración de sustrato.

La mejor forma de escribir la cinética enzimática es mediante la ecuación de Michaelis-Menten Ec.1 que presupone la formación de un complejo enzima-sustrato.

$$v = \frac{k_2 [E] [S]}{[S] + k_m} \quad (1)$$

Donde:  $k_m = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}$  y representa la concentración de sustrato necesaria para obtener la mitad de la velocidad de reacción máxima. Por tanto, cuando la concentración de sustrato es diez veces el valor de  $k_m$ , la reacción se produce a un 91% de la velocidad máxima de la reacción ( $V_{\text{máx}}$ ), y si es 100 veces el valor de  $k_m$ , al 99% de la  $V_{\text{máx}}$ , con tal que no tenga lugar la inhibición por el exceso de sustrato y no se produzcan inhibidores durante la reacción enzimática.

En este caso:

$$V_{max} = k_2[E] \quad (2)$$

La cinética de Michaelis-Menten supone que tanto el sustrato como el enzima son solubles y están mezclados de forma homogénea, lo que no siempre ocurre. Los valores de  $V_{max}$  y  $k_m$  se obtienen gráficamente una vez hecha la siguiente transposición en la ecuación de Michaelis-Menten (Ec.3):

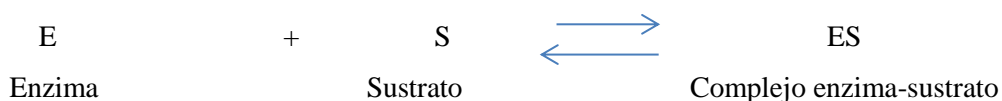
$$\frac{1}{v} = \frac{1}{V_{max}} + \frac{K_m}{V_{max}} * \frac{1}{[S]} \quad (3)$$

Al representar  $1/v$  frente a  $1/[S]$  se obtienen los valores de  $-1/K_m$  y  $1/V_{max}$  a partir de la intersección de  $1/[S]$  y  $1/v$  con los ejes. La pendiente de la línea es  $K_m/V_{max}$ .

Esta representación se llama gráfica de Lineweaver-Burk. En muchos casos la velocidad a la que el complejo enzima-sustrato se descompone en enzima libre y producto es relativamente baja, limitando la velocidad de la reacción catalizada por el enzima. Entonces la constante de velocidad  $k_2$  es muy pequeña y su valor se aproxima a  $k_1/k_{-1}$  y por tanto es igual a  $k_s$ , constante de disociación del complejo enzima-sustrato ( $[E][S]/[ES]$ ). Aunque en estas condiciones el valor de  $k_2$  controla la velocidad de reacción, frecuentemente ésta se refiere a  $V_{cat}$  que representa el número de combinaciones del enzima en moles de sustrato / centro activo / unidad de tiempo.

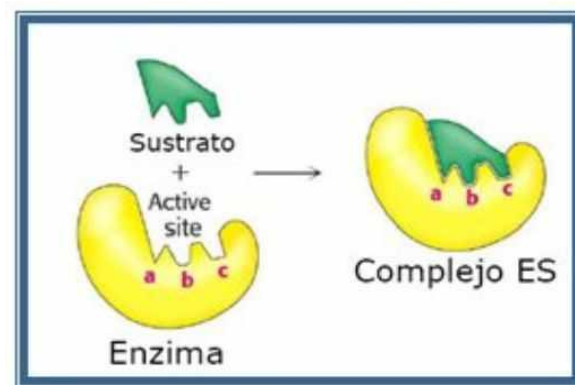
### 1.6 Complejo Enzima-Sustrato.

En todas las reacciones catalizadas por enzimas, el primer paso es la unión (no covalente) del sustrato al enzima para formar lo que es llamado el complejo enzima-sustrato. Este complejo se puede disociar para devolver sustrato libre y enzima. Por tanto, ésta es una reacción de equilibrio.



La velocidad a la cual sucede esta reacción dependerá de la naturaleza tanto del enzima como del sustrato; sin embargo, en todos los casos en que ha sido medida la velocidad de enlace se ha visto que es muy rápida, de modo que el equilibrio de la reacción se consigue en una fracción muy pequeña de segundo.

Las interacciones que estabilizan el complejo enzima sustrato son puentes de hidrógeno, fuerzas hidrofóbicas, iónicas y fuerzas de London (de van der Waals). Si la enzima se expone a temperaturas extremas o en ambientes de pH diversos (es decir, valores de pH altos o bajos) puede desplegarse y perder así sus sitios activos. Cuando esto ocurre, se dice que la enzima se desnaturaliza. [12]



**Figura 9. Formación del complejo enzima-sustrato**

### **1.7 Hidrólisis enzimática de los residuos celulósicos.**

La hidrólisis enzimática de la celulosa consiste en tres pasos: absorción de las enzimas celulasas en la superficie de la celulosa, la degradación de la celulosa a azúcares fermentables o glucosa y la desorción de las celulasas. Una clase de fermentación importante de la glucosa es la fermentación alcohólica.

La degradación enzimática de materiales celulósicos, es estimulada por la perspectiva de que esta investigación contribuiría al desarrollo en gran escala a procesos de conversión que beneficiarían a la humanidad en una forma sustancial.

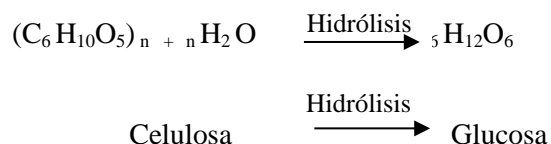
Algunos de estos procesos de conversión potenciales son:

- Ayudar a resolver problemas de eliminación de desechos.
- Disminuir la contaminación del medio ambiente.
- Aliviar la escasez de alimentos y nutrientes para animales.
- Mejorar el manejo de bosques y tierras extensas, suministrando un mercado para maderas de baja calidad, que se desarrollan en tierras pobremente cultivadas.
- Disminuir la dependencia del hombre hacia los combustibles fósiles, proveyendo un recurso conveniente y renovable de energía en forma de etanol.

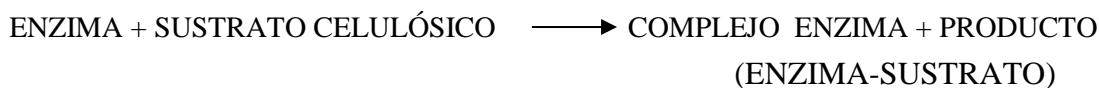
- La sacarificación de los materiales celulósicos, utilizando las enzimas celulasas, no presentan el problema de la formación de productos indeseables como los que se presentan en las otras formas de hidrólisis (ácida, básica, etc.). En la actualidad los estudios de hidrólisis se están orientando a la utilización de enzimas para la sacarificación de subproductos celulósicos por las ventajas que ofrece el proceso.

La hidrólisis completa de la celulosa consiste en el rompimiento de los enlaces entre moléculas de glucosa, a cada unidad se añade una molécula de agua, produciéndose el azúcar glucosa. [13]

La reacción es:



La labor enzimática de la hidrólisis puede ser resumida de la siguiente manera:



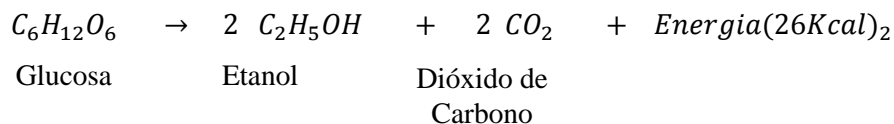
## 1.8 Fermentación.

### 1.8.1 Conceptos.

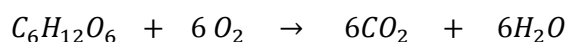
**1.8.1.1 Concepto bioquímico.** Desde el punto de vista bioquímico, una fermentación se define como un proceso mediante el cual las sustancias orgánicas (sustrato) sufren una serie de cambios químicos (reducciones y oxidaciones) que producen energía: al finalizar la fermentación, se presenta una acumulación de varios productos, unos mas oxidados (aceptaron electrones) y otros más reducidos (donaron electrones) que el sustrato, con un balance total de energía positivo. Esta energía es utilizada en el metabolismo de los microorganismos.

Es importante mencionar que en el concepto bioquímico, no se consideran como fermentaciones los procesos en los que participa el oxígeno. Cuando el aceptor final de electrones es el oxígeno molecular y no una sustancia orgánica, el proceso se conoce como respiración. Ejemplo: La producción, a partir de glucosa, de etanol y dióxido de carbono:





**1.8.1.2. Concepto Microbiológico.** Desde el punto de vista microbiológico, se entiende por fermentación aquel proceso en el que los microorganismos producen metabolitos o biomasa, a partir de la utilización de sustancias orgánicas, en ausencia o presencia de oxígeno. La descomposición de los sustratos es llevada a cabo por enzimas producidas por los microorganismos para tal finalidad. Se debe observar que el concepto llega a excluir a los microorganismos del proceso, siempre y cuando estén presentes sus enzimas; sin embargo, en estos casos, la velocidad de obtención y los rendimientos son menores. Ejemplo: la conversión de glucosa en -presencia de oxígeno- en dióxido de carbono y agua.



Un proceso de fermentación, visto como un todo, está compuesto por tres etapas:

- La preparación del inóculo.
- La selección del medio de cultivo.
- La producción de la biomasa o de los metabolitos de interés.

**1.8.2 Clasificación.** La gran cantidad de procesos y productos que involucra el término fermentación hace difícil no solo la definición del concepto, sino también su clasificación. En general, se establecen divisiones con base en:

**1.8.2.1 Los productos finales de la fermentación.** Desde el punto de vista comercial, las fermentaciones se pueden clasificar tomando en cuenta los productos que se obtendrán. Entre ellos, se puede mencionar:

- Células microbianas (biomasa)
- Metabolitos microbianos (enzimas, etanol, butanol, acetona, ácidos orgánicos, etc.).

**1.8.2.2 El oxígeno en el proceso de fermentación.** También es posible clasificar las fermentaciones con base en la presencia o ausencia de oxígeno molecular durante el proceso. De acuerdo con esta división, los procesos se denominan:

- Fermentación aerobia. El aceptor final de electrones es el oxígeno; es imprescindible su presencia para el desarrollo del microorganismo y la producción del compuesto deseado. En este tipo de procesos, se produce fundamentalmente biomasa, dióxido de carbono y agua.

- Fermentación anaerobia. El proceso de producción del metabolito de interés se desarrolla en ausencia de oxígeno; los productos finales son sustancias orgánicas, por ejemplo, ácido láctico, ácido propiónico, ácido acético, butanol, etanol y acetona. Sin embargo, en la mayoría de las fermentaciones anaeróbicas, se requiere un poco de oxígeno al inicio del proceso para favorecer el crecimiento y la reproducción del microorganismo.

En los procesos anaerobios, los microorganismos producen mucho menos energía que en los aerobios y, para suplir sus necesidades de energía, metabolizan una mayor cantidad de azúcares; por consiguiente, elaboran más metabolitos.

Entonces, a través de la cantidad de oxígeno, se puede manipular un proceso de fermentación, para incrementar la producción de la sustancia de interés; por ejemplo, cuando se trabaja con un microorganismo facultativo (capaz de crecer en presencia o ausencia de oxígeno), como *Saccharomyces cerevisiae*, se obtienen diferentes productos mayoritarios, según la concentración de oxígeno en el medio: si es muy limitada, habrá una mayor producción de etanol, mientras que si es alta, se favorece la reproducción del microorganismo, o sea, la producción de biomasa.[14]

### **1.8.3 Fermentación Alcohólica.**

La fermentación alcohólica (denominada también como fermentación del etanol o incluso fermentación etílica) es un proceso biológico de fermentación en plena ausencia de aire (oxígeno -  $O_2$ ), originado por la actividad de algunos microorganismos que procesan los hidratos de carbono (por regla general azúcares: como pueden ser por ejemplo la glucosa, la fructosa, la sacarosa, el almidón, etc.) para obtener como productos finales: un alcohol en forma de etanol (cuya fórmula química es:  $CH_3-CH_2-OH$ ), dióxido de carbono ( $CO_2$ ) en forma de gas y unas moléculas de ATP que consumen los propios microorganismos en su metabolismo celular energético anaeróbico.

La fermentación alcohólica tiene como finalidad biológica proporcionar energía anaeróbica a los microorganismos unicelulares (levaduras) en ausencia de oxígeno para ello disocian las moléculas de glucosa y obtienen la energía necesaria para sobrevivir, produciendo el alcohol y  $CO_2$  como desechos consecuencia de la fermentación.

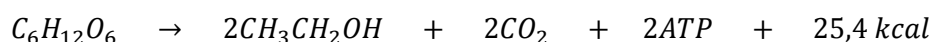
La finalidad de la fermentación etílica (desde una perspectiva microbiana) es la obtención de energía para la supervivencia de los organismos unicelulares anaeróbicos.

#### ***1.8.4 Mecanismo de Reacción y Balance Energético.***

En el caso concreto de la fermentación alcohólica, al descomponerse la glucosa en alcohol etílico y dióxido de carbono, se desprende sólo un 7,33% de la energía susceptible de recuperación.

Desde el punto de vista energético este rendimiento es muy bajo, pero lo compensa el hecho de que estas cortas cantidades de energía representan un verdadero capital productivo.

Gracias a las levaduras presentes en el mosto, los azúcares son transformados mediante un cierto número de etapas en etanol y anhídrido carbónico, según la ecuación de Gay-Lussac:

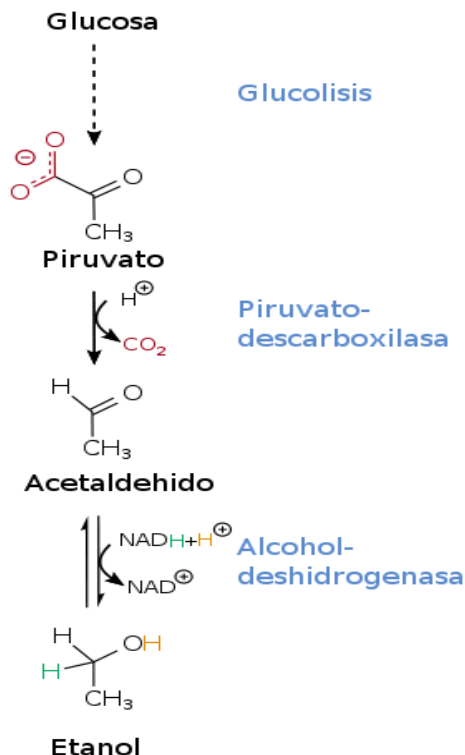


La fermentación alcohólica es una reacción exotérmica (la energía libre de Gibbs-entalpía libre, de la reacción de fermentación etílica muestra un valor de  $\Delta G$  de  $-234.6 \text{ kJ mol}^{-1}$  en un entorno de acidez neutra pH igual a 7) que va acompañada de la liberación de moléculas enérgicas (ATP) – energía materialmente comprometida – puestas a disposición de las levaduras; se trata de energía en una forma, en una «moneda» que pueda «gastar» el organismo. Esta forma no es el calor, pues con calor nada puede hacer el organismo; el calor es la forma de energía realmente «libre», y el organismo «lo deja deslizarse entre los dedos», se desprende de él, lo irradia, como «excreción», como desecho, como una especie de sobrante de energía que se elimina lo mismo que las excreciones materiales.

El ATP (trifosfato de adenosina), sin embargo, juega el papel de intermediario y sirve en todas partes para la acumulación de energía, pues para su formación se requiere relativamente poca energía. En otras palabras: si, por ejemplo, en el transcurso de una síntesis bioquímica de una sustancia importante para el organismo, debe superarse una etapa que solo es posible mediante el consumo de energía, entra en función el ATP, y entonces la etapa que requiere energía se “acopla” con la rotura del ATP que lo suministra.

Cada enlace energético en una molécula de ATP corresponde a unas 10.000 cal/mol. Las levaduras se sirven igualmente de las sustancias nitrogenadas (nitrógeno amoniacal y aminoácidos), presentes en el mosto, para la síntesis de sus proteínas. Se debe considerar que el etanol va aumentando de concentración durante el proceso de fermentación y debido a que es un compuesto tóxico, cuando su concentración alcanza aproximadamente un 12% de volumen las levaduras

tienden a morir. Esta es una de las razones fundamentales por las que las bebidas alcohólicas (no destiladas) no alcanzan valores superiores a los 20% de concentración de etanol.



**Figura 10. Mecanismo de Reacción Fermentación Alcohólica**

**1.8.5 Limitaciones del Proceso.** La determinación de los factores que limitan la glicólisis fermentativa del etanol son complejos debido a la interrelación existente y a la naturaleza de los parámetros intervinientes durante el proceso de fermentación. Algunos de ellos se deben tener en cuenta en la fermentación alcohólica industrial. En las limitaciones que surgen durante el proceso se pueden enumerar algunos de los más importantes como son:

**1.8.5.1 Concentración de etanol resultante.** Una de las principales limitaciones del proceso, es la resistencia de las levaduras a las concentraciones de etanol (alcohol) que se llegan a producir durante la fermentación, algunos microorganismos como el *saccharomyces cerevisiae* pueden llegar a soportar hasta el 20% de concentración en volumen.

**1.8.5.2 Acidez del substrato.** El pH es un factor limitante en el proceso de la fermentación ya que las levaduras se encuentran afectadas claramente por el ambiente, bien sea alcalino o ácido. Por regla general el funcionamiento de las levaduras está en un rango que va aproximadamente desde 3.5 a 5.5 pH. Los procesos industriales procuran mantener los niveles óptimos de acidez durante la fermentación usualmente mediante el empleo de disoluciones tampón. Los ácidos de algunas frutas (ácido tartárico, málico) limitan a veces este proceso.

**1.8.5.3 Concentración de azúcares.** La concentración excesiva de hidratos de carbono en forma de monosacáridos y disacáridos puede frenar la actividad bacteriana. De la misma forma la baja concentración puede frenar el proceso. Las concentraciones límite dependen del tipo de azúcar así como de la levadura responsable de la fermentación.

**1.8.5.4 Contacto con el aire.** Una intervención de oxígeno (por mínima que sea) en el proceso lo detiene por completo (es el denominado Efecto Pasteur). Esta es la razón por la que los recipientes fermentadores se cierran herméticamente.

**1.8.5.5 La temperatura.** El proceso de fermentación es exotérmico, y las levaduras tienen un régimen de funcionamiento en unos rangos de temperatura óptimos, se debe entender además que las levaduras son seres mesófilos. Si se expone cualquier levadura a una temperatura cercana o superior a 55 °C por un tiempo de 5 minutos se produce su muerte. La mayoría cumple su misión a temperaturas de 30 °C.

**1.8.5.6 Ritmo de crecimiento de las cepas.** Durante la fermentación las cepas crecen en número debido a las condiciones favorables que se presentan en el medio, esto hace que se incremente la concentración de levaduras.

**1.8.5.7 Selección del microorganismo fermentador.** El éxito o fracaso de un proceso fermentativo comienza con el microorganismo utilizado, en la elección del mismo se deberían tener en cuenta ciertos criterios generales que se indican a continuación:

- La cepa a utilizar debe ser genéticamente estable.
- Su velocidad de crecimiento debería ser alta.
- La cepa debe estar libre de contaminantes, incluidos fagos.
- Sus requerimientos nutricionales deberían ser satisfechos a partir de medios de cultivo de costo reducido.
- Debe ser de fácil conservación por largos períodos de tiempo, sin pérdida de sus características particulares.

- Debería llevar a cabo el proceso fermentativo completo en un tiempo corto. [16]

**1.8.5.8 *Saccharomyces Cerevisiae*.** La levadura de cerveza *Saccharomyces cerevisiae* es un hongo unicelular, la ausencia de patogenicidad permite su manipulación con las mínimas precauciones.

Las utilidades industriales más importantes de esta levadura son la producción de cerveza, pan y vino, gracias a su capacidad de generar dióxido de carbono y etanol durante el proceso de fermentación. Básicamente este proceso se lleva a cabo cuando esta levadura se encuentra en un medio muy rico en azúcares (como la D-glucosa).

En condiciones de escasez de nutrientes, la levadura utiliza otras rutas metabólicas que le permiten obtener un mayor rendimiento energético, y por tanto no realiza la fermentación.[17]

## **2. MARCO EXPERIMENTAL**

### **2.1 Proceso experimental seleccionado**

#### **2.1.1 Descripción del proceso**

Fueron colectadas cepas nativas del Ecuador, el punto de toma de muestras escogido fue la localidad de Timbre en la provincia de Esmeraldas, se aislaron las muestras con ayuda de fundas de papel y guantes, debidamente codificadas; se colectó material para ser secado para su posterior identificación taxonómica y para el trabajo en el laboratorio, se tomaron datos de campo ecológicos como, temperatura, humedad relativa.

Una vez preservadas las muestras se comenzó su posterior adaptación, para ello se procedió a la siembra en el inóculo 1 o primario, se denomina así ya que contiene nutrientes de fácil asimilación para el hongo lo que permite su fácil adaptación y crecimiento, este está formado por agar, papa y glucosa, cuando el hongo coloniza este medio, se procede a sembrarlo en el inóculo 2 o secundario, llamado de ese modo por contener nutrientes más complejos ricos en proteína con el fin de que el micelio se fortalezca, eso es de mucha ayuda al momento de la deslignificación, este segundo medio de cultivo está formado por quinua con un 80% de humedad, cuando el micelio coloniza todo el inóculo 2 se lo siembra en el inóculo 3 o definitivo. Este está constituido por el raquis, pseudotallo, cascara del plátano y cascara de frejol, este último como suministro de nitrógeno.

Los residuos fueron recolectados de Santo Domingo de los Tsachilas, seleccionados por su apariencia firme, color verde y olor agradable, lavados, secados y molidos hasta un tamaño de partícula de 0,4 mm, mezclados de forma homogénea con un 80 % de humedad.

El inóculo 1 y 2 se lo realizó en incubadoras controlando temperatura de 27 °C y en ausencia de luz, para el inóculo 3 se usó un invernadero donde se mantuvo una temperatura mayor a 32 °C y la humedad del 80%.

En el inóculo tres, transcurrido un tiempo de 3, 6 y 9 semanas se procede a extraer las muestras a los seis pH y se realizan pruebas de determinación de lignina.

Cada una de las muestras son sometidas a una hidrólisis enzimática usando enzimas Celulasas con el fin de hidrolizar la celulosa, rompiendo su estructura en cadenas menores de azúcares reductores, este procedimiento se lo realizó a 55 °C a un pH de 5 por un tiempo de 48 horas, se realizó análisis de azúcares reductores con el fin de analizar el rendimiento de la conversión de celulosa a azúcares sencillos.

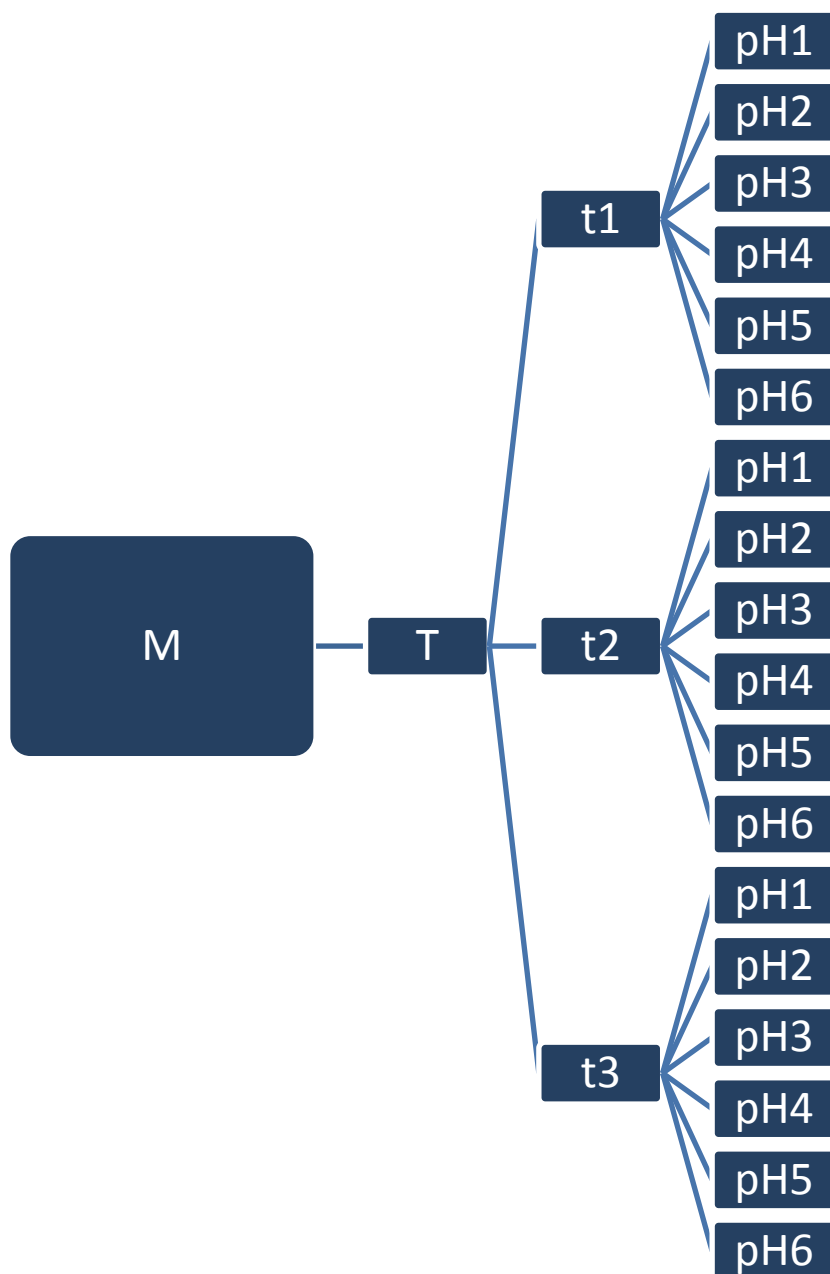
Se realizó una fermentación alcohólica usando *Saccharomyces cerevisiae* en una concentración del 2% (p/p) a un pH de 4,5, a una temperatura de 30 °C, por un tiempo de 72 horas, se procedió a destilar a un punto de ebullición de 72 °C y se midieron sus grados GL A 15 °C, volumen y se calculó el rendimiento.





## 2.2 Diseño Experimental para el crecimiento del hongo.

Diseño experimental para la determinación correcta de tiempo y pH para el correcto crecimiento el hongo *Trametes Versicolor*. El proceso experimental seleccionado es: con un mismo tipo de muestra se establecen 3 tiempos distintos de crecimiento y para cada tiempo de crecimiento se disponen seis diferentes potenciales



**Figura 11. Diseño experimental para el crecimiento del hongo (para la deslignificación ) variando pH y tiempo de crecimiento.**

Nomenclatura utilizada:

M= Muestra, que serán 1 tipo: 100 % residuo orgánico de plátano (raquis, pseudotallo y cascara).

T1= Temperatura de crecimiento 1 del Hongo Trametes Versicolor.

t1 =Tiempo de crecimiento 1 del Hongo Trametes Versicolor (3 semanas).

t2 =Tiempo de crecimiento 2 del Hongo Trametes Versicolor (6 semanas).

t3 =Tiempo de crecimiento 3 del Trametes Versicolor (9 semanas).

pH1=Potencial Hidrogeno 1 para el crecimiento del hongo Trametes Versicolor (pH=7,5).

pH2= Potencial Hidrogeno 2 para el crecimiento del hongo Trametes Versicolor (pH=7).

pH3= Potencial Hidrogeno 3 para el crecimiento del hongo Trametes Versicolor (pH=6,63).

pH4= Potencial Hidrogeno 4 para el crecimiento del hongo Trametes Versicolor (pH=6,29).

pH5= Potencial Hidrogeno 5 para el crecimiento del hongo Trametes Versicolor (pH=5,7).

pH6= Potencial Hidrogeno 6 para el crecimiento del hongo Trametes Versicolor (pH=5,15).

## **2.3. Materiales y Equipos**

### ***2.3.1 Adaptación del hongo***

#### ***2.3.1.1 Inóculo 1***

##### ***a) Preparación del agar de papa dextrosa para el inóculo 1.***

- Reverbero
- Malla de amianto
- Vasos de precipitación de 1000ml (Ap±100ml)
- Cuchillo
- Balanza analítica [Rango: 0-100g];[Ap:±0.0001g]
- Vidrios de reloj
- Autoclave
- Filtro de tela

##### ***b) Siembra del hongo en el inóculo 1***

- Cámara de flujo
- Pinzas de disección
- 8 Bisturí
- 15 Cajas Petri
- Vidrios de reloj

- Vasos de precipitación de 250 ml ( $Ap \pm 50 \text{ ml}$ )
- Guantes
- Cajas Petri
- Cinta parafínica
- Mecheros de bunsen
- Incubadora [Rango: 0-400°C]; [ $Ap: \pm 0.01^\circ\text{C}^\circ$ ]

#### **2.3.1.2. Inóculo 2**

##### **a) Preparación de la quinua**

- Balanza
- Autoclave
- Fundas de policarbonato
- Guantes

##### **b) Siembra del hongo en el Inóculo 2**

- Cámara de flujo
- Pinzas de disección
- Bisturí
- Vidrios de reloj
- Vasos de precipitación de 250 ml ( $Ap \pm 50 \text{ ml}$ )
- Guantes
- Mecheros de bunsen
- Ligas
- Incubadora [Rango: 0-400°C]; [ $Ap: \pm 0.01^\circ\text{C}^\circ$ ]
- Filtro de tela

#### **2.3.1.3. Inóculo 3**

##### **a) Recolección de los residuos de plátano.**

- Cepillo
- Cuchillo
- Balanza
- Molino de granos
- Recipientes de plástico

- Tamiz de menor a 0,4 mm

***b) Preparación sustrato a base de residuos de plátano (raquis , pseudotallo y cáscara)***

- Balanza
- Autoclave
- Fundas de policarbonato
- Filtros de tela

***c) Siembra del hongo en el Inóculo 3***

- Cámara de flujo
- Pinzas de disección
- Bisturí
- Vidrios de reloj
- Vasos de precipitación de 250 ml ( $Ap \pm 50ml$ )
- Guantes
- Mecheros de bunsen
- Cuchara
- Ligas
- Incubadora [Rango: 0-400°C];[Ap:  $\pm 0.01^\circ C$ ]
- 18Tubos PVC de ½ in de diámetro Y 10 cm de longitud
- Algodón
- Gasas
- Cinta parafínica
- Invernadero
- Estantes
- Cajas de cartón aisladas con espuma flex
- Medidor de humedad
- Termómetro [Rango: -10 a 100°C];[Ap:  $\pm 0.1^\circ C$ ]
- Potenciómetro [Rango: 0-14];[Ap:  $\pm 0.01$ ]
- Mascarilla

***2.3.2 Determinación de lignina***

- Balón de destilación 250 ml
- Equipo Soxhlet
- Papel filtro

- Embudo
- Balanza analítica [Rango: 0-100g];[Ap:±0.0001g]
- Reverbero
- Malla de amianto
- Baño térmico
- Matraz 50 ml (Ap±10ml)
- Agitador
- Probeta 100 ml (Ap±1ml)
- Refrigerante
- Mangueras
- Termómetro [Rango: -10 a 100°C];[Ap: ±0.1°C]

### ***2.3.3 Hidrolisis enzimática***

- Balanza analítica [Rango: 0-100g];[Ap:±0.0001g]
- Vidrio de reloj
- Baño térmico
- Termómetro [Rango: -10 a 100°C];[Ap: ±0.1°C]

### ***2.3.4 Determinación de azúcares reductores***

- Equipo de determinación de azúcares reductores
- Vasos de plástico de 100 ml (Ap±50ml)
- 2 Pipetas 5 ml (Ap±0,1ml)
- 2 Pipetas 10ml (Ap±0,1ml)
- Vidrio de reloj
- Reverbero
- Agitadores
- Matraz
- Malla de amianto
- Termómetro [Rango: -10 a 100°C];[Ap: ±0.1°C]
- Agitador
- Cronómetro [Ap: ±0.01seg]
- Pinza para matraz

### **2.3.5 Fermentación.**

- Incubadora [Rango: 0-400°C];[Ap:  $\pm 0.01^\circ\text{C}$ ]
- Botellas de vidrio
- 1 Agitador
- Balanza Analítica [Rango: 0-100g];[Ap:  $\pm 0.0001\text{g}$ ]
- Balón de destilación de 500 mL
- Incubadora [Rango: 0-400°C];[Ap:  $\pm 0.01^\circ\text{C}$ ]
- Mangueras
- Jeringuillas
- Termómetro [Rango: -10 a 100°C];[Ap:  $\pm 0.1^\circ\text{C}$ ]
- Potenciómetro [Rango: 0-14];[Ap:  $\pm 0.01$ ]
- Tapón
- Refractómetro [Rango: 0-100°Brix];[Ap:  $\pm 0.25^\circ\text{Brix}$ ]
- Refrigerante de Liebig
- Autoclave T=121°C, P=1,1 bar
- Tubos fusible
- Botellas plásticas
- Alcohómetro Gay Lussac [Rango: 0-100°GL];[Ap:  $\pm 1^\circ\text{GL}$ ]

## **2.4 Sustancias y reactivos**

### **2.4.1 Adaptación del hongo**

#### **2.4.1.1 Inóculo 1**

##### **a) Preparación del agar de papa dextrosa para el Inóculo 1.**

- Agar
- Papa
- Agua destilada [H<sub>2</sub>O]

##### **b) Siembra del hongo en el Inóculo 1**

- Agar papa dextrosa
- Alcohol
- Hipoclorito de sodio al 5 % [NaClO]

- Etanol al 70% [C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH]

#### **2.4.1.2 Inóculo 2**

##### **a) Preparación de la quinua**

- Quinua
- Agua destilada [H<sub>2</sub>O]

##### **b) Siembra del hongo en el inóculo 2**

- Quinua esterilizada
- Etanol al 80% [C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH]
- Cajas Petri con el micelio del hongo en agar de papa-dextrosa

#### **2.4.1.3 Inóculo 3**

##### **a) Recolección de los residuos de plátano.**

- Agua destilada [H<sub>2</sub>O]
- Residuo bio másico de plátano

##### **b) Preparación sustrato a base de residuos de plátano (raquis , pseudotallo y cascara)**

- Residuo biomásico de plátano
- Agua destilada [H<sub>2</sub>O]

##### **c) Siembra del hongo en el inoculo 3**

- Residuo de plátano esterilizado esterilizada
- Etanol al 80% [C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH]
- Carbonato de calcio [CaCO<sub>3</sub>]
- Inóculo 2 (Micelio de hongo Trametes Versicolor en quinua)

#### **2.4.2 Determinación de lignina**

- Sustrato pre tratado con el hongo Trametes Versicolor /sustrato sin tratar



- Agua destilada [H<sub>2</sub>O]
- Benceno [C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>]
- Etanol [C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH]
- Ácido sulfúrico 5% [H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>]

#### **2.4.3 Hidrolisis enzimática**

- Sustrato pre tratado con el hongo *Trametes Versicolor*
- Agua destilada [H<sub>2</sub>O]
- Carbonato de calcio [CaCO<sub>3</sub>] 5%
- Ácido sulfúrico 5% [H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>]
- Enzimas Celluclast 1.5 L

#### **2.4.4 Determinación de azúcares reductores**

- Solución de Fehling A (CuSO<sub>4</sub> x 5H<sub>2</sub>O)
- Solución de Fehling B (NaOH + KNaC<sub>4</sub>H<sub>4</sub>O<sub>6</sub> x 4H<sub>2</sub>O)
- Ácido sulfúrico [H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>]
- Agua destilada [H<sub>2</sub>O]

#### **2.3.5 Fermentación**

- *Saccharomyces Cerevisiae*
- Ácido Sulfúrico [H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>] (2% p/p)
- Carbonato de Calcio [CaCO<sub>3</sub>] (5% p/p)
- Agua destilada [H<sub>2</sub>O]

### **2.5 Procedimiento**

#### **2.5.1 Adaptación del hongo**

##### **2.5.1.1 Inóculo 1**

##### **a) Preparación del agar de papa dextrosa para el inóculo 1**

- Lavar y pelar las papas
- Pesar 250 g de papa se la corta en finos pedazos de menos de un centímetro

- Colocar los 250 g de papa en un vaso de precipitación y se lo afora a 1000 ml con agua destilada y se la deja a infusión por mas o menos 30 minutos.
- Filtrar con ayuda de los filtros de tela.
- En los vidrios de reloj se pesa 20 g de agar y 20 g de glucosa
- Cuando esta infusión esta caliente, se coloca el agar de glucosa y se agita hasta que este totalmente disuelto.
- Colocar en las botellas de vidrio
- Autoclavar por 45 min a una presión de 1 bar

**b) *Siembra del hongo en el inóculo 1***

- Todo el material a ser usado en la siembra debe ser correctamente lavado, y esterilizado en el autoclave por 30 min a una presión de 1 bar.
- Desinfectar con alcohol toda la cámara de flujo y prender los mecheros de Bunsen.
- En cada uno de los vasos se coloca 200 ml de alcohol etílico en el cual se colocara todo el material de disección que sale del autoclave con el fin de tener un ambiente estéril y evitar la contaminación
- El agar de papa-dextrosa es dispensado en cada una de las cajas, se coloca tres cuartos de su volumen, inmediatamente colocado el agar se cierra la caja, se dispensa todas las cajas a ser usadas y se las deja reposar hasta que el agar se haya gelatinizado.
- Tomar el hongo con mucha delicadeza, sin dañar el tejido, con el bisturí se realiza un corte en el pie del hongo, el cual es tejido nuevo, el tamaño del corte será mas o menos de 0,5 cm de largo y 0,3 cm de espesor, se hacen varios cortes de estas dimensiones, con mucho cuidado se los coloca en un vidrio de reloj.
- Cada uno de estos trozos son colocados por 3 minutos en la solución de hipoclorito al 5% luego en agua 1 minuto.
- Posteriormente en la solución de etanol al 70% por 5 minutos
- Por ultimo en agua 1 minuto.
- Inmediatamente deben ser colocados en las cajas Petri que contienen el agar. Con ayuda de las pinzas se colocada un trocito por caja, este debe situarse en la mitad de la caja y debe ser manipulado con delicadeza para no dañarlo.
- Cerrar con cinta parafínica, se lo deja reposar por 24 horas a temperatura ambiente, luego de este tiempo se invierte la caja y se la coloca en una incubadora a 27 centígrados.
- Rotular las cajas con la fecha y el nombre del hongo para llevar un registro, cada 24 horas se hace el monitoreo del crecimiento del micelio del hongo.
- Una vez que se haya poblado totalmente la caja con micelio uno, se debe pasar a un inóculo 2.

### **2.5.1.2 Inóculo 2**

#### **a) Preparación de la quinua**

- Remojar por 48 horas la quinua
- Con ayuda del filtro de tela se seca la quinua hasta que tenga una humedad del 80%.
- Pesar 400 g se lo enfunda y se lo autoclava por 30 minutos a una presión de 1,5 psi.

#### **b) Siembra del hongo en el inóculo 2**

- Todo el material a usarse debe estar lavado y correctamente esterilizado por 45 min a una presión de 1,5 psi.
- Desinfectar con alcohol toda la cámara de flujo y prender los mecheros de Bunsen.
- Las cajas del inóculo uno, se abren con cuidado, se segmentan en cuadrados de 1cm de largo
- Colocar de 1 a 3 cuadrados en el centro de la las fundas que contienen los 400 g de la quinua debidamente esterilizada con anterioridad.
- Cerrar con ayuda de ligas, evitando que quede oxígeno.
- Las fundas se colocan en la incubadora a 27 °C y se controla el crecimiento del micelio, las fundas deben estar correctamente rotuladas con las fechas en la que fue realizada la siembra.
- Monitorear el crecimiento del micelio periódicamente. Una vez que el micelio haya poblado del todo las fundas se lo pasa al inóculo 3.

### **2.5.1.3 Inóculo 3**

#### **a) Recolección de los residuos de plátano.**

Los residuos orgánicos fueron recolectados de un mismo lugar de venta de plátano que proviene de Santo Domingo de los Tsachilas.

- Seleccionar los residuos de apariencia firme, color y olor característico
- Con ayuda del cepillo, agua lavar y secar los residuos
- Cortar a un tamaño de 1 cm de longitud y 1 cm de espesor
- Luego deshidratar y molerlos hasta un tamaño de partícula de 0,4mm.
- Almacenar en un lugar fresco y ventilado, para utilizarlos durante la experimentación.

#### **b) Preparación sustrato a base de residuos de plátano (raquis, pseudotallo y cáscara).**

- Remojar por 48 horas el residuo biomásico del plátano.

- Con ayuda de los filtros de tela se seca hasta que tenga una humedad del 80%.
- Pesar 400 g, enfundarlo y auto clavarlo se lo autoclava por 30 minutos a una presión de 1,5 psi.

***c) Siembra del hongo en el inóculo 3 (hidrolisis de lignina)***

- Acondicionar los tubos PVC, rellenarlos con una capa de algodón al inicio y final con más o menos de 1 cm de espesor y el resto con gasa.
- Todo el material a usarse debe estar correctamente esterilizado por 30 a 45 min a una presión de 1,5 psi.
- Desinfectar con alcohol toda la cámara de flujo y prender los mecheros de bunsen.
- En la cámara de flujo se abren las fundas preparadas en el inóculo 2 se las abre con cuidado, al igual que las fundas esterilizadas con el material bio másico del plátano
- Con ayuda de una cuchara se toma una porción de quinua y se la coloca en el centro de la funda con el sustrato final de plátano.
- Sacar todo el aire que pueda quedar en la funda y en el extremo superior se coloca un tubo de PVC adecuado con anterioridad
- Atar el tubo a la funda con ayuda de ligas y cinta parafínica.
- Rotular y se lo lleva al invernadero, se los coloca en las cajas de cartón recubiertas con la espuma flex.
- Controlar periódicamente su temperatura, crecimiento y humedad.
- Trascurrido una semana, dos semanas y tres semanas se seca cada una de las muestras.

## ***2.5.2 Determinación de lignina***

***a) Extracción de los solubles en alcohol-benceno***

- Previamente a la determinación de lignina y celulosa, se toma dos gramos de la muestra los que son sometidos a extracción de los materiales solubles en 250 ml, compuestos por dos partes de benceno y una parte de etanol. Con los solventes se extraen todas las sustancias de baja polaridad como resinas, ácidos grasos, hidrocarburos y parte de los taninos. Se realizó la extracción en el extractor tipo Soxhlet por un tiempo de cuatro horas.

***b) Eliminación de los compuestos solubles en agua caliente.***

- Los residuos de la extracción, se los trató con agua a baño termostático por tres horas. El agua caliente disuelve todos los solutos que no fueron solubles en la etapa anterior. Incluye el resto de los taninos, azúcares, aminoácidos, alcoholes.

### ***c) Determinación del contenido de lignina insoluble en ácido***

- La muestra libre de solubles se mezcla con 15 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 72%, se agitan con frecuencia a 15°C durante dos horas.
- Diluir el ácido con agua destilada hasta tener una concentración del 3%
- Colocar a reflujo durante cuatro horas, tiempo previsto para la hidrólisis de la celulosa.
- Filtrar los residuos que corresponden a lignina, se secan hasta masa constante.
- Se pesa y se determina el porcentaje de lignina.

### ***2.5.3 Hidrólisis enzimática de la celulosa***

- Tomar 100 g de la muestra de sustrato pre tratado con el hongo *Trametes Versicolor* y colocar en un vaso de precipitación de 1000 ml.
- Adicionar 1000 ml de agua destilada, revolver hasta formar una solución homogénea
- Adecuar el pH entre 5 a 6 ya sea con ácido sulfúrico para bajarlo o con la solución de carbonato de calcio para subir el potencial.
- Calentar en el baño térmico hasta una temperatura de 55°C revolviendo constantemente.
- Adicionar el 1% en peso del sustrato seco de la enzima celulasas (Celluclast 1.5 L)
- Revolver continuamente por 2 horas
- Medir el pH continuamente, ya que cuando la enzima actúa baja el potencial y hay que ajustarlo.
- Introducir en la estufa que se encuentra a 55°C y dejar que actúe la enzima por 48 horas
- Medir continuamente los grados brix de la solución.
- Concentrar la solución hasta obtener un mínimo de 9 grados brix.

### ***2.5.4 Determinación de azúcares reductores***

- Colocar 5 ml de la solución de Fehling A y 5 ml de la solución Fehling B en un matraz de 250 ml. Añadir 20 ml de agua destilada en un matraz y un volumen de 2 ml de muestra a determinar azúcares reductores
- Someter a calentamiento, dejar a ebullición por 2 minutos exactamente, retirar del reverbero y dejar enfriar hasta temperatura ambiente.
- Colocar la muestra en el vaso de plástico del equipo de azúcares reductores
- Adicionar 10 ml de ácido sulfúrico y 10 ml de yoduro de potasio, tapar la muestra
- Colocar la muestra en el equipo, programarlo para que titule con la solución de tiosulfato de sodio.
- Observar el cambio de potencial e imprimir resultados de el porcentaje de azúcares reductores

### 2.5.5 Fermentación

- Medir el pH de las soluciones de 9 grados brix, que han pasado por el tratamiento enzimático y adecuar a 4,5.
- Medir el volumen de muestra con la que se va a trabajar, y colocarlo dentro de una botella plástica.
- Encender la incubadora y colocarla a 30 °C.
- Tomar aproximadamente 20 ml de muestra y ponerla dentro de la incubadora.
- Pesar la levadura en la balanza analítica de tal manera que esta sea el 1% del contenido de azúcares.
- Poner la levadura dentro de los 20 ml de solución, agitar suavemente y poner en la incubadora por media hora. Al igual que el resto de la solución para que también alcance la temperatura deseada.
- Adicionar los 20 ml de la solución en la botella plástica y taparla con ayuda de un tapón que la conecte por medio de un tubo fusible a otra botella plástica llena con agua.
- Controlar el pH y los °Brix con el refractómetro. Si el pH baja adicionar CaCO<sub>3</sub>.
- Dejar dentro de la incubadora la muestra por un tiempo de aproximadamente 72 horas, o hasta que sus °Brix permanezcan constantes.

### 2.6 Parte experimental.

**Tabla 3. Datos para determinar la Cantidad inicial de Lignina en el Sustrato.**

Peso Inicial de muestra: 1g					
Sustrato	# de repetición	Peso Crisol inicial	Peso Crisol final	g Lignina	%Lignina
Residuo seudomásico de plátano	1	22,99257	23,43297	0,4404	44,04
	2	22,88712	23,37392	0,4868	48,68
	3	22,93061	23,41084	0,48023	48,02
				<b>Promedio</b>	<b>46,91</b>

**Tabla 4. Crecimiento de l hongo Trametes Versicolor a diferentes pH.**

MUESTRA	Potencial (pH)	SEMANAS DE CRECIMIENTO									TOTAL (cm)
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	
A	7,5	1	2	2	3,5	4,5	5,5	6,5	6,5	6,5	6,5
B	7	2,5	6	7	8	8	9,5				9,5
C	7,5	2	4	7							7
D	7	2,5	6	8							8
E	7	1,5	4,5	5,5	7	7	7	7	7	7	7
F	7,5	3	8,5	11	11	11	11				11
G	6,29	3	8,5	11							11
H	5,7	2	3,5	4,5							4,5
I	5,15	1,5	2	4							4
J	6,63	5	8	8,5							8,5
K	6,63	5	9	12	14	14	14	15	15	15	15
L	6,29	3	6	8	9	10	11				11
M	5,7	2	5	7	11	12	12				12
N	5,15	4	4,5	5,5	7,5	8,5	8,5				8,5
O	6,29	2,5	5,5	7,5	9,5	10	10	11	11	12	12
P	6,63	4,5	9	11	14	15	16				16
Q	5,7	1,5	3	4	6	8	8	8	8	8	8
R	5,15	2	4	4,5	4,5	4,5	5,5	6,5	6,5	6,5	6,5

**Tabla 5. Datos para determinar la cantidad de lignina después del tratamiento con el hongo Trametes Versicolor.**

Peso Inicial de la muestra: 1g.					
Numeral	Peso Crisol inicial (g)	Peso Crisol final(g)	Diferencia de Pesos*, g	% de lignina en la muestra	% de celulosa y hemicelulosa
A	23,0505	23,22875	0,1783	17,83	82,17
B	23,0128	23,1615	0,1487	14,87	85,13
C	23,0674	23,2176	0,1502	15,02	84,98
D	23,0542	23,2029	0,1487	14,87	85,13
E	22,8468	23,0130	0,1662	16,62	83,38
F	23,0505	23,2303	0,1798	17,98	82,02
G	24,1539	24,2684	0,1145	11,45	88,55

Continacion de la Tabla 5.

H	22,5082	22,6958	0,1876	18,76	81,24
I	22,5938	22,7835	0,1897	18,97	81,03
J	23,1643	23,2981	0,1338	13,38	86,62
K	23,0505	23,1748	0,1243	12,43	87,57
L	23,7786	23,9155	0,1369	13,69	86,31
M	22,5938	22,8483	0,2545	25,45	74,55
N	24,1539	24,4222	0,2683	26,83	73,17
O	24,6419	24,7986	0,1567	15,67	84,33
P	24,7648	24,8904	0,1256	12,56	87,44
Q	22,5938	22,8061	0,2123	21,23	78,77
R	24,1539	24,4099	0,256	25,6	74,4

**Tabla 6. Datos para determinar azúcares reductores posteriores a la hidrólisis enzimática mediante celulasas.(%disolución al 10%) (Concentración de enzimas celulasas al 2%)**

Muestra	Potencial (pH)	Peso de muestra (g)	Peso de la solución	Grados brix iniciales	Grados brix de finales	%Azúcares Reductores
A	7,5	100	1100	0,00	4,00	0,266
B	7	100	1100		4,00	0,251
C	7,5	100	1100		3,00	0,231
D	7	100	1100		3,50	0,216
E	7	100	1100		4,25	0,273
F	7,5	50	550		3,00	0,243
G	6,29	100	1100		4,00	0,414
H	5,7	100	1100		2,00	0,163
I	5,19	100	1100		2,50	0,178
J	6,63	100	1100		5,00	0,44
K	6,63	100	1100		7,50	0,843
L	6,29	75	825		4,00	0,448
M	5,8	100	1100		3,00	0,172
N	5,15	77	847		2,75	0,173
O	6,29	100	1100		5,75	0,632
P	6,63	92	1012		4,00	0,587
Q	5,7	50	550		3,25	0,173
R	5,15	60	660		3,00	0,172



**Tabla 7. Datos para la Fermentación (T=37°C, pH=4,5, t=72horas)**

<b>Muestra</b>	<b>Grados Brix concentrados</b>	<b>Volumen de fermentación</b>	<b>%Levadura</b>	<b>*°GL</b>	<b>Densidad</b>
<b>A</b>	9,5	350	2	15	0,9848
<b>B</b>	9	368	2	10	0,9785
<b>C</b>	9,5	295	2	15	0,9809
<b>D</b>	9	260	2	14	0,9864
<b>E</b>	9	385	2	17	0,9975
<b>F</b>	9	278	2	14	0,9559
<b>G</b>	8,5	338	2	17	0,9919
<b>H</b>	8	260	2	8	0,9853
<b>I</b>	8	300	2	9	0,9614
<b>J</b>	11	348	2	17	0,9772
<b>K</b>	16	480	2	39	0,972
<b>L</b>	9,5	370	2	17	0,972
<b>M</b>	8	285	2	10	0,9845
<b>N</b>	8	230	2	10	0,9881
<b>O</b>	11	380	2	22	0,9845
<b>P</b>	10,75	378	2	19	0,9872
<b>Q</b>	9,5	260	2	10	0,9817
<b>R</b>	7,5	250	2	12	0,9867

\*°GL fueron medidos a 15°C

### 3 CALCULOS Y RESULTADOS

Nota: Todos los cálculos modelo se realizaron para la muestra A.

#### 3.1. Cálculo del Porcentaje de Lignina.

$$\%Lignina = \frac{\text{Peso crisol}_{\text{vacío}} - \text{Peso crisol}_{\text{final}}}{\text{Peso muestra inicial}} * 100 \quad (4)$$

#### 3.2. Cálculo del Valor Medio del Porcentaje de Lignina

$$\%Lignina = \frac{\%Lignina1 + \%Lignina2 + \%Lignina3}{3} \quad (5)$$

Para la repetición de la muestra: porcentaje inicial

$$\%Lignina = \frac{44,04\% + 48,68\% + 48,02\%}{3} = 46,91\%$$

**Tabla 8. Porcentaje de lignina después del tratamiento con el Hongo Trametes Versicolor**

Numeral	Lignina inicial	Lignina final
A	46,91	16,62
B		14,87
C		14,87
D		15,02
E		17,83
F		17,98
G		11,45
H		18,76
I		18,97
J		13,38
K		12,43
L		13,69
M		25,45
N		26,83
O		15,67
P		12,56
Q		21,23
R		25,6
	Promedio	17,40

### 3.3 Cálculo del Rendimiento de Azúcares Reductores obtenidos.

$$\%Rendimiento = \frac{\%azucare*volumenn\ de\ disolucion*\%de\ sutrato\ en\ la\ solucion}{Pes*oInicialdemuestra} * 100 \quad (6)$$

#### 3.3.1 Para la repetición de la muestra A: %Rendimiento.

$$\%Rendimiento = \frac{0,266*11*10}{100} * 100$$

$$\%Rendimiento = 27,3\%$$

**Tabla 9. Rendimiento de los azúcares reductores para las diferentes muestras**

<b>Numeral</b>	<b>Rendimiento de azúcares reductores (%)</b>
<b>A</b>	27,3
<b>B</b>	25,1
<b>C</b>	19,44
<b>D</b>	21,945
<b>E</b>	29,26
<b>F</b>	24,3
<b>G</b>	35,19
<b>H</b>	13,04
<b>I</b>	16,91
<b>J</b>	52,8
<b>K</b>	84,3
<b>L</b>	49,28
<b>M</b>	15,48
<b>N</b>	15,57
<b>O</b>	75,84
<b>P</b>	76,31
<b>Q</b>	19,03
<b>R</b>	14,62
<b>Promedio</b>	<b>34,206389</b>

### 3.4 Cálculo de la cantidad de levadura para la fermentación.

$$masa_{levadura} = Volumen\ despues\ de\ la\ concentraci3n * ^\circ Brix * \%Peso \quad (7)$$

- Los °Brix medidos son valores sólo representativos para poder seguir el comportamiento de la fermentación
- Se utilizó un porcentaje de 2% de levadura.

### 3.4.1 Para la repetición de la muestra A: masa de levadura.

$$\text{masa}_{\text{levadura}} = 350\text{ml} * \left(\frac{9,5}{100}\right)^\circ\text{Brix} * 0,02\% \text{Peso}_{\text{levadura}} = 0,665 \text{ g de levadura}$$

**Tabla 10. Gramos de levadura para la fermentación de cada muestra**

Numeral	g de levadura
A	0,693
B	0,6624
C	0,468
D	0,5605
E	0,665
F	0,5004
G	0,5746
H	0,416
I	0,48
J	0,7656
K	1,536
L	0,703
M	0,456
N	0,368
O	0,836
P	0,8127
Q	0,494
R	0,38

### 3.5. Calculo del Rendimiento de alcohol obtenido

$$\%R = \frac{^\circ\text{GL A } 15^\circ\text{C} * \rho * Vd}{\text{gr sustrato seco g}} \quad (8)$$

Donde:

°GL a 15 °C : Grados Gay Lussac corregidos a 15 grados centígrados (%V/V)

$\rho$  Densidad del etanol (g/ml)

Vd Volumen del destilado (ml)

g del sustrato seco Gramos del sustrato seco empleados en cada muestra

### 3.5.1 Para la repetición de la muestra A: %Rendimiento de alcohol

$$\%R = \frac{14 * 0,9864 * 33}{100}$$

$$\%R = 7,29\%$$

**Tabla 11. Rendimiento de alcohol para las diferentes muestras.**

Numeral	Rendimiento de alcohol (%)
A	7,2917
B	3,7183
C	4,5572
D	4,5612
E	5,9088
F	9,3678
G	5,3959
H	2,8377
I	6,6625
J	11,1303
K	30,3264
L	7,4909
M	3,1504
N	9,6244
O	10,8295
P	11,2133
Q	6,4792
R	6,1175

### 3.6 Cálculo del modelo cinético logístico. Cálculo de los parámetros de altura máxima de crecimiento del hongo (K1) y constante de crecimiento del hongo (K2)

#### 3.6.1 Modelo cinético logístico

$$y = \frac{k1 * X}{K2 + X} \quad (9)$$

Donde

V = velocidad de crecimiento (cm/semanas)

K1 = altura máxima (cm)

K2 = constante de crecimiento del hongo

X= tiempo de crecimiento del hongo (semanas)

$$\frac{1}{y} = \frac{k2}{K1 * X} + \frac{1}{K1} \quad (10)$$

Donde

$$Intersección = b = \frac{1}{K1} \quad (11)$$

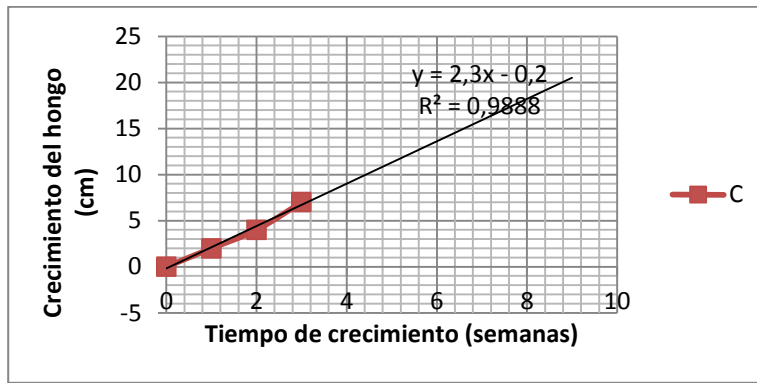
$$Pendiente = m = \frac{k2}{K1} \quad (12)$$

##### 3.6.1.1 Linealización de muestras correspondientes al grupo de pH 7,5.

#### MUESTRA C

**Tabla 12. Datos de crecimiento de la muestra C para el crecimiento del hongo con un pH de 7,5 en un tiempo de 3 semanas.**

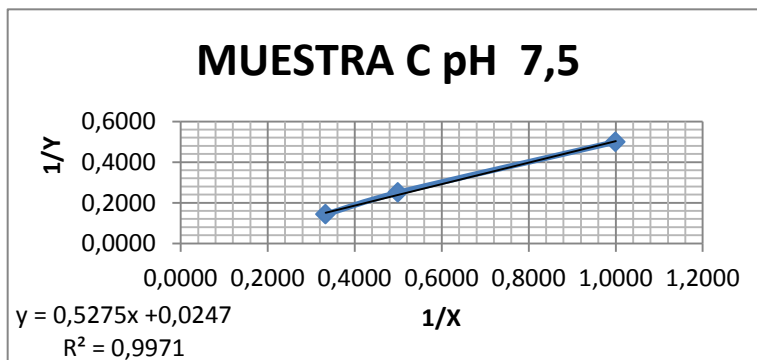
X (Tiempo de crecimiento (semanas))	Y (Crecimiento C (cm))
1	2
2	4
3	7



**Gráfico 1. Crecimiento del hongo vs tiempo de crecimiento de la muestra C a un pH de 7,5.**

**Tabla 13. Datos de linealización de la muestra C para el crecimiento del hongo con un pH de 7,5 en un tiempo de 3 semanas.**

X (Tiempo de crecimiento (semanas))	Y (Crecimiento C (cm))	1/X	1/Y
1	2	1,0000	0,5000
2	4	0,5000	0,2500
3	7	0,3333	0,1429



**Gráfico 2. Curva (1/Y) vs (1/X) .Linealización para la muestra C con pH 7,5.**

$$1/Y = 0,5275(1/X) + 0,0247$$

$$b = \frac{1}{K1}$$

$$K1 = \frac{1}{0,0247}$$

$$K1 = 40,4858$$

$$m = \frac{k2}{K1} = 0,4346$$

$$K2 = m * K1$$

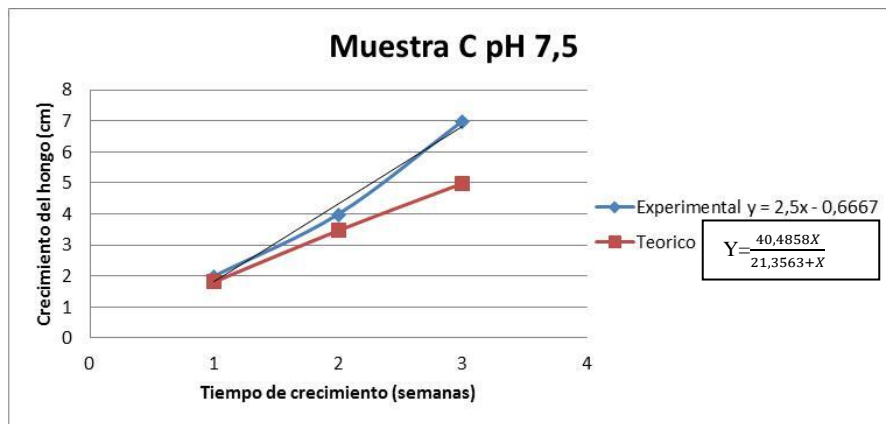
$$K2 = 0,5275 * 40,4858$$

$$K2 = 21,3563$$

$$y = \frac{40,4858X}{21,3563 + X}$$

**Tabla 14. Crecimiento del hongo de la muestra C para el crecimiento del hongo con un pH de 7,5 experimental y teórico.**

Tiempo de crecimiento (semanas)	Crecimiento C (cm)		%E
	Experimental	Calculado	
1	2	1,8109	-10,4423215
2	4	3,4667	-15,3835059
3	7	4,9866	-40,3762082



**Gráfico 3. Crecimiento del hongo en función del tiempo para la muestra C calculado y teórico pH 7,5.**

## Muestra F

**Tabla 15. Datos de crecimiento de la muestra F para el crecimiento del hongo con un pH de 7,5 en un tiempo de 6 semanas.**

X (Tiempo de crecimiento (semanas))	Y (Crecimiento F (cm))
1	3
2	8,5
3	11
4	11
5	11
6	11



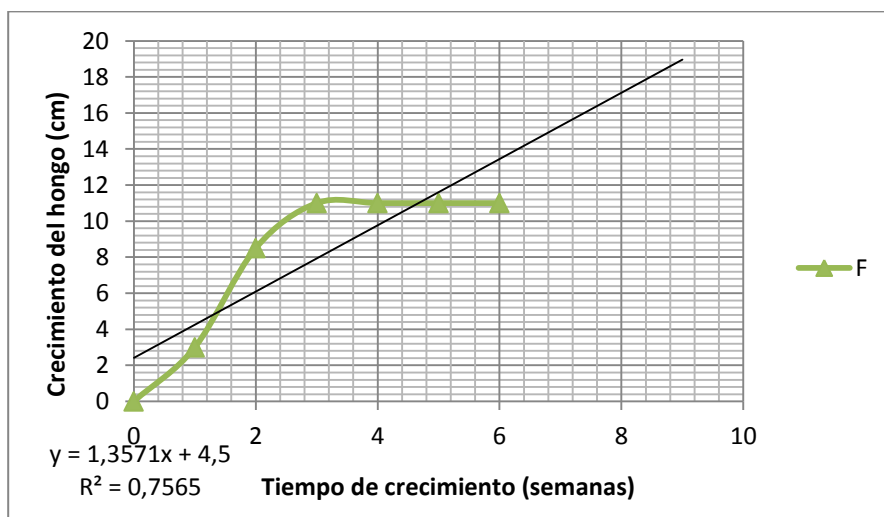


Gráfico 4. Crecimiento del hongo vs tiempo de la muestra F a un pH de 7,5

Tabla 16. Datos de linealización de la muestra F para el crecimiento del hongo con un pH de 7,5 en un tiempo de 6 semanas.

X (Tiempo de crecimiento (semanas))	Y (Crecimiento F (cm))	1/X	1/Y
1	3	1	0,3333
2	8,5	0,5000	0,1176
3	11	0,3333	0,0909
4	11	0,2500	0,09090
5	11	0,2000	0,09090
6	11	0,1666	0,09090

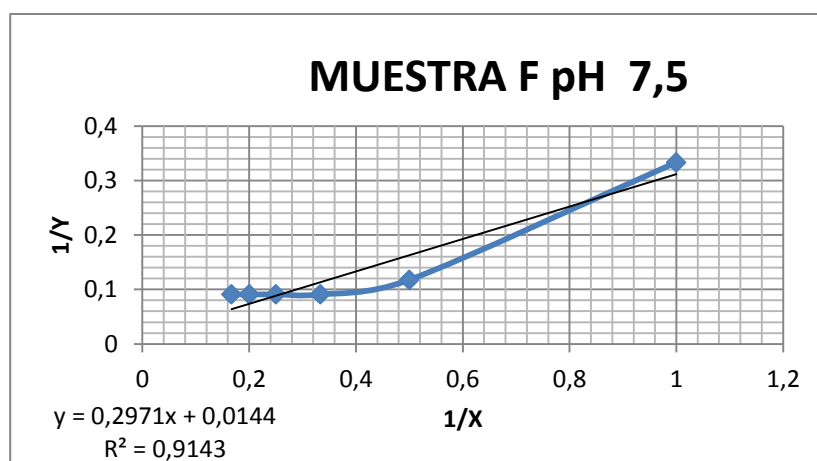


Gráfico 5. Curva (1/Y) vs (1/X). Linealización para la muestra F con pH 7,5.

$$1/Y = 0,2971(1/X) + 0,0144$$

$$b = \frac{1}{K1}$$

$$K1 = \frac{1}{0,0144}$$

$$K1=69,4444$$

$$m = \frac{k2}{K1} = 0,2971$$

$$K2 = m * K1$$

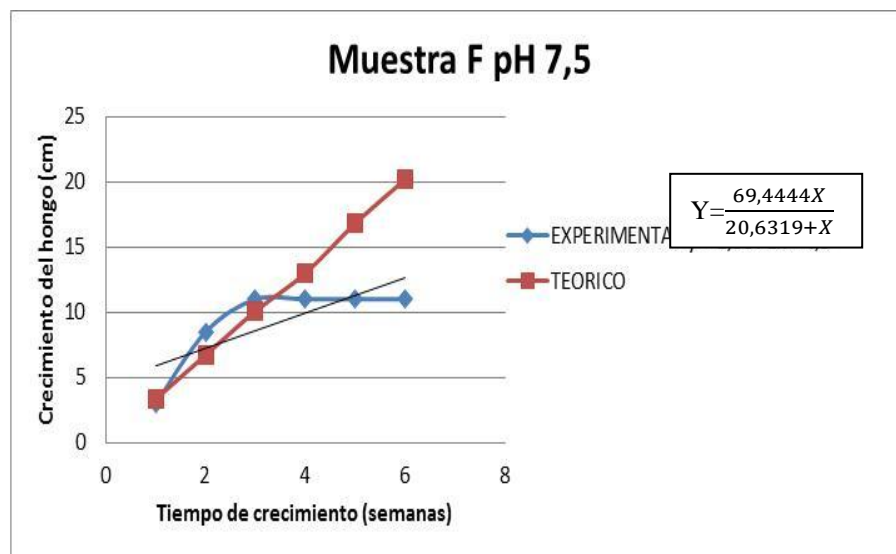
$$K2 = 0,2971 * 69,4444$$

$$K2 = 20,6319$$

$$y = \frac{69,4444X}{20,6319 + X}$$

**Tabla 17. Crecimiento del hongo de la muestra F para el crecimiento del hongo con un pH de 7,5 experimental y calculado.**

Tiempo de crecimiento (semanas)	Crecimiento C (cm)		%E
	Experimental	Calculado	
1	3	3,3658	10,8681443
2	8,5	6,7317	-26,2682532
3	11	10,097	-8,94325047
4	11	13	15,3846154
5	11	16,829	34,6366391
6	11	20,195	45,531072

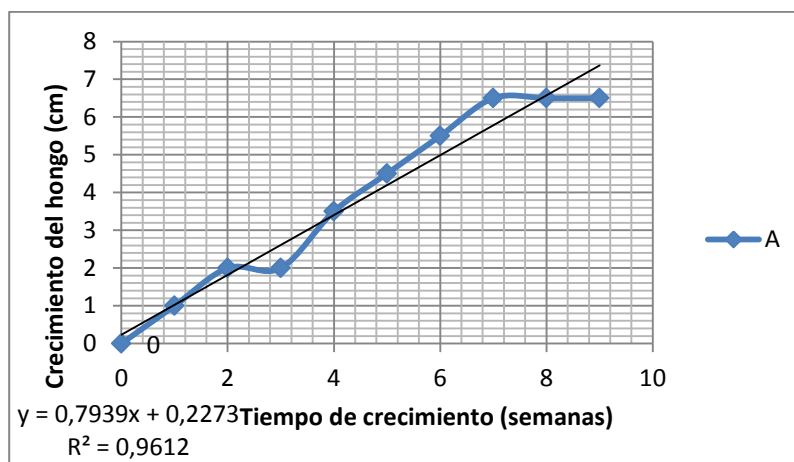


**Gráfico 6. Crecimiento del hongo en función del tiempo para la muestra F calculado y teórico pH 7,5.**

## MUESTRA A

**Tabla 18. Datos de crecimiento de la muestra A para el crecimiento del hongo con un pH de 7,5 en un tiempo de 9 semanas.**

X (Tiempo de crecimiento (semanas))	Y (Crecimiento A (cm))
1	1
2	2
3	2
4	3,5
5	4,5
6	5,5
7	6,5
8	6,5
9	6,5



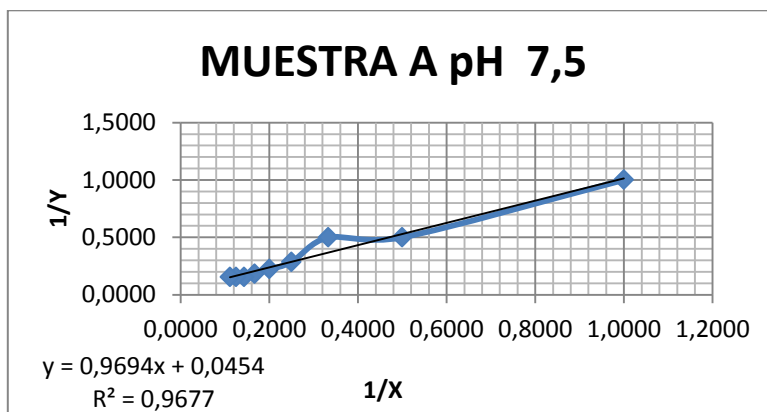
**Gráfico 7. Crecimiento del hongo vs tiempo de la muestra A pH de 7,5.**

**Tabla 19. Datos de linealización de la muestra A para el crecimiento del hongo con un pH de 7,5 en un tiempo de 9 semanas.**

X (Tiempo de crecimiento (semanas))	Y (Crecimiento A (cm))	1/X	1/Y
1	1	1,0000	1
2	2	0,5000	0,5000
3	2	0,3333	0,5000
4	3,5	0,2500	0,2857
5	4,5	0,2000	0,2222

Continuación Tabla 21.

6	5,5	0,1666	0,1818
7	6,5	0,1428	0,1538
8	6,5	0,1250	0,1538
9	6,5	0,1111	0,1538



**Gráfico 8. Curva (1/Y) vs (1/X) .Linealización para la muestra A pH 7,5.**

$$1/Y = 0,9694(1/X) + 0,0454$$

$$b = \frac{1}{K1}$$

$$K1 = \frac{1}{0,0454}$$

$$\underline{K1 = 22,0264}$$

$$m = \frac{k2}{K1} = 0,9694$$

$$K2 = m * K1$$

$$K2 = 0,9694 * 22,0264$$

$$\underline{K2 = 21,3523}$$

$$y = \frac{22,0264X}{21,3523 + X}$$

**Tabla 20. Crecimiento del hongo de la muestra A para el crecimiento del hongo con un pH de 7,5 experimental y calculado.**

Tiempo de crecimiento (semanas)	Crecimiento C (cm)		%E
	Experimental	Calculado	
1	1	0,9854	-1,48163182
2	2	1,8864	-6,02205259
3	2	2,7134	26,2917373

Continuación de la Tabla 19.

4	3,5	3,4752	-0,71362799
5	4,5	4,1792	-7,67611026
6	5,5	4,8317	-13,8315707
7	6,5	5,4381	-19,5270407
8	6,5	6,0033	-8,27378275
9	6,5	6,5312	0,47770701

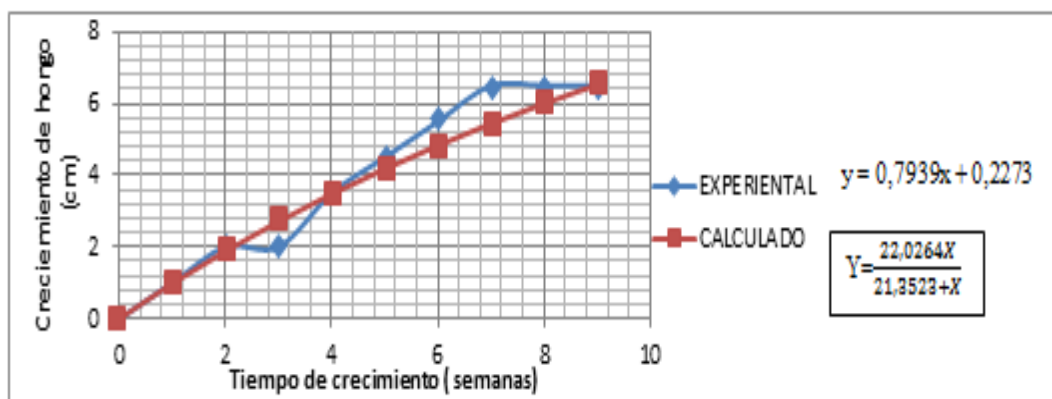


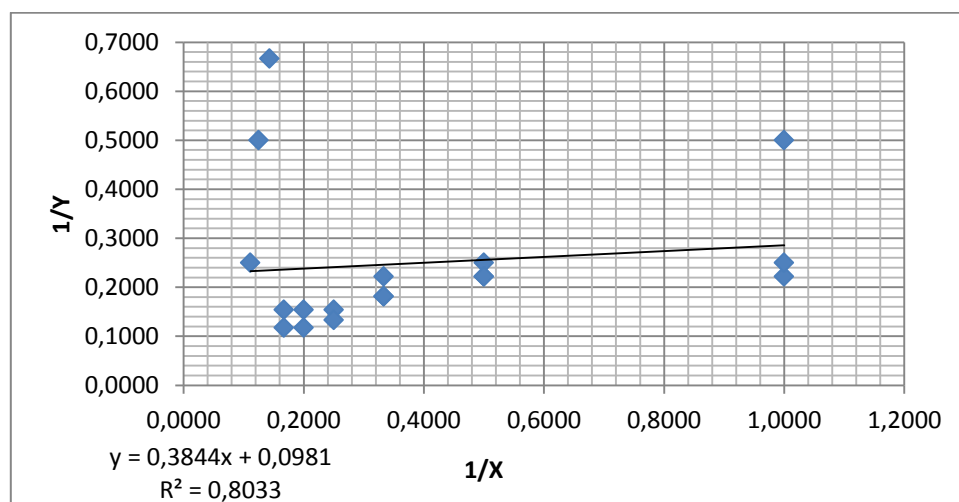
Gráfico 9. Crecimiento del hongo en función del tiempo para la muestra A calculado y experimental pH 7,5.

Tabla 21. Datos de crecimiento del grupo de muestras con un pH de 7,5.

Y (crecimiento del hongo) cm	x(tiempo de crecimiento ) semanas
1,5	1
2	2
4	3
4	1
4,5	2
5,5	3
7,5	4
8,5	5
8,5	6
2	1
4	2
4,5	3
4,5	4
4,5	5
5,5	6
6,5	7
6,5	8
6,5	9

**Tabla 22. Datos de crecimiento del grupo de muestras con un pH de 7,5.**

Y (crecimiento del hongo) cm	x(tiempo de crecimiento ) semanas	1/Y	1/X
1,5	1	0,6667	1,0000
2	2	0,5000	0,5000
4	3	0,2500	0,3333
4	1	0,2500	1,0000
4,5	2	0,2222	0,5000
5,5	3	0,1818	0,3333
7,5	4	0,1333	0,2500
8,5	5	0,1176	0,2000
8,5	6	0,1176	0,1667
2	1	0,5000	1,0000
4	2	0,2500	0,5000
4,5	3	0,2222	0,3333
4,5	4	0,2222	0,2500
4,5	5	0,2222	0,2000
5,5	6	0,1818	0,1667
6,5	7	0,1538	0,1429
6,5	8	0,1538	0,1250
6,5	9	0,1538	0,1111



**Gráfico 10. Curva (1/Y) vs (1/X) .Linealización para las muestras con un pH 7,5.**

$$1/Y = 0,3844(1/X) + 0,0981$$

$$b = \frac{1}{K1}$$

$$K1 = \frac{1}{0,0981}$$

$$K1=10,1936$$

$$m = \frac{k2}{K1} = 0,3844$$

$$K2 = m * K1$$

$$K2 = 0,3844 * 10,1936$$

$$K2 = 3,9184$$

$$y = \frac{10,1936X}{3,9184 + X}$$

**Tabla 23. Crecimiento del hongo de las muestras con un pH de 7,5 experimental y teórico.**

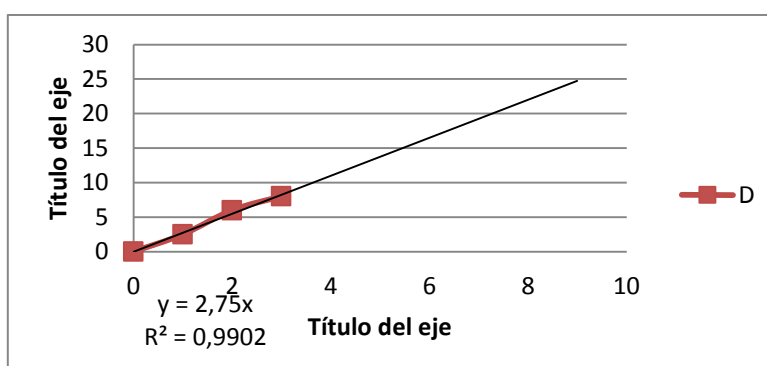
Y (crecimiento del hongo) cm	x(tiempo de crecimiento) semanas	Crecimiento teórico del hongo (cm)	%E
1,5	1	2,0725	27,6236429
2	2	3,4447	41,9397916
4	3	4,4447	10,0051747
4	1	2,0725	-93,0036188
4,5	2	3,4447	-30,635469
5,5	3	4,4447	-23,7428848
7,5	4	5,1493	-45,6508652
8,5	5	5,7149	-48,7340111
8,5	6	6,1664	-37,8437987
2	1	2,0725	3,49819059
4	2	3,4447	-16,1204169
4,5	3	4,4447	-1,24417846
4,5	4	5,1493	12,6094809
4,5	5	5,7149	21,2584647
5,5	6	6,1664	10,8069538
6,5	7	6,5353	0,54014353
6,5	8	6,8422	5,00131537
6,5	9	7,1016	8,4713304

### 3.6.1.1 Linealización de muestras correspondientes al grupo de pH 7.

#### MUESTRA D

**Tabla 24. Datos de crecimiento de la muestra D con un pH de 7 en un tiempo de 3 semanas.**

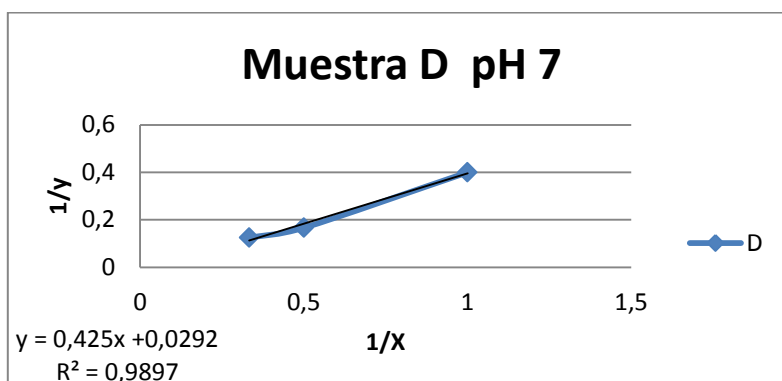
X (Tiempo de crecimiento (semanas))	Y (Crecimiento D (cm))
1	2,5
2	6
3	8



**Gráfico 11. Crecimiento del hongo vs tiempo de crecimiento de la muestra D con pH 7**

**Tabla 25. Datos de linealización de la muestra D para el crecimiento del hongo con un pH de 7 en un tiempo de 3 semanas.**

X (Tiempo de crecimiento (semanas))	Y (Crecimiento D (cm))	1/X	1/Y
1	2,5	1,0000	0,4000
2	6	0,5000	0,1666
3	8	0,3333	0,1250



**Gráfico 12. Curva (1/Y) vs (1/X) .Linealización para la muestra D con pH 7.**



$$1/Y=0,425(1/X)+0,0292$$

$$b = \frac{1}{K1}$$

$$K1 = \frac{1}{0,0292}$$

$$K1=34,2465$$

$$m = \frac{k2}{K1} = 0,425$$

$$K2 = m * K1$$

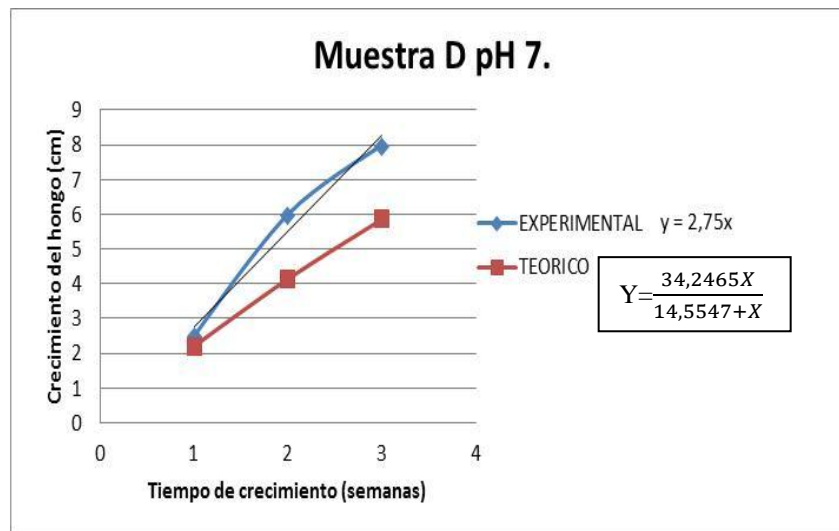
$$K2 = 0,425 * 34,2465$$

$$K2 = 14,5547$$

$$y = \frac{34,2465X}{14,5547 + X}$$

**Tabla 26. Crecimiento del hongo de la muestra D para el crecimiento del hongo con un pH de 7 experimental y calculado.**

Tiempo de crecimiento (semanas)	Crecimiento C (cm)		%E
	Experimental	Calculado	
1	2,5	2,2016	-13,5537791
2	6	4,1373	-45,0221159
3	8	5,8525	-36,6937206

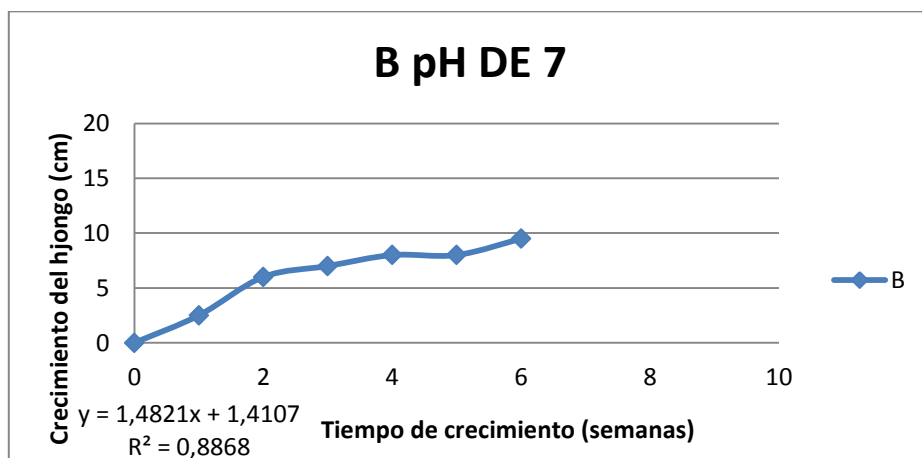


**Gráfico 13. Crecimiento del hongo en función del tiempo para la muestra D teórico y experimental pH 7.**

## MUESTRA B

**Tabla 27. Datos de crecimiento de la muestra B para el crecimiento del hongo con un pH de 7 en un tiempo de 6 semanas.**

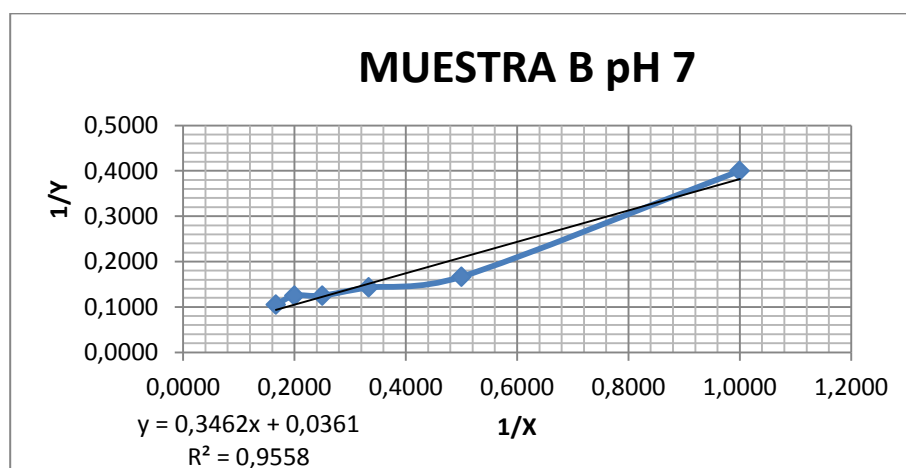
X (Tiempo de crecimiento (semanas))	Y (Crecimiento B (cm))
1	2,5
2	6
3	7
4	8
5	8
6	9,5



**Gráfico 14. Crecimiento del hongo vs tiempo de crecimiento de la muestra B con pH 7**

**Tabla 28. Datos de linealización de la muestra B para el crecimiento del hongo con un pH de 7 en un tiempo de 6 semanas.**

X (Tiempo de crecimiento (semanas))	Y (Crecimiento B (cm))	1/X	1/Y
1	2,5	1,0000	0,4000
2	6	0,5000	0,1667
3	7	0,3333	0,1429
4	8	0,2500	0,1250
5	8	0,2000	0,1250
6	9,5	0,1667	0,1053



**Gráfico 15. Curva (1/Y) vs (1/X) .Linealización para la muestra B con pH 7.**

$$1/Y = 0,3462(1/X) + 0,0361$$

$$b = \frac{1}{K1}$$

$$K1 = \frac{1}{0,0361}$$

$$K1 = 27,7008$$

$$m = \frac{k2}{K1} = 0,3462$$

$$K2 = m * K1$$

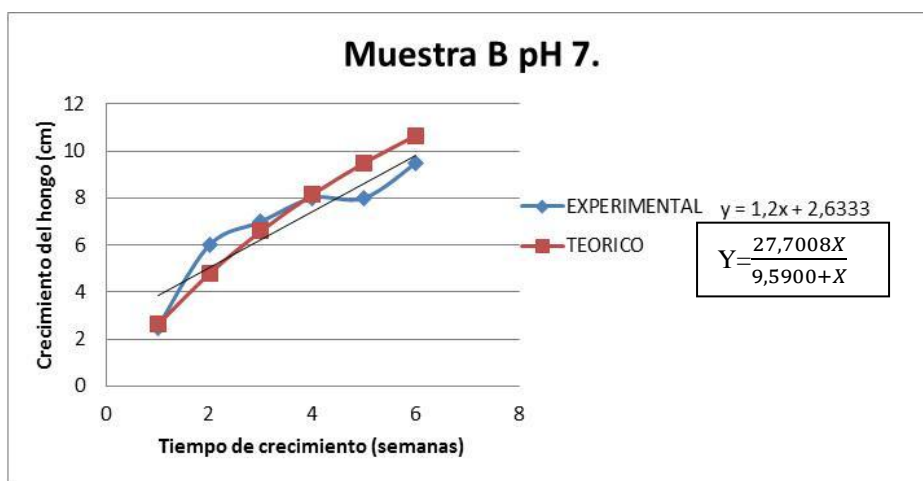
$$K2 = 0,2971 * 27,7008$$

$$K2 = 9,5900$$

$$y = \frac{27,7008X}{9,5900 + X}$$

**Tabla 29. Crecimiento del hongo de la muestra B para el crecimiento del hongo con un pH de 7 experimental y calculado.**

Tiempo de crecimiento (semanas)	Crecimiento C (cm)		%E
	Experimental	Calculado	
1	2,5	2,6157	4,4232
2	6	4,7801	-25,5206
3	7	6,6006	-6,0509
4	8	8,1532	1,8790
5	8	9,493	15,7273
6	9,5	10,66	10,8818

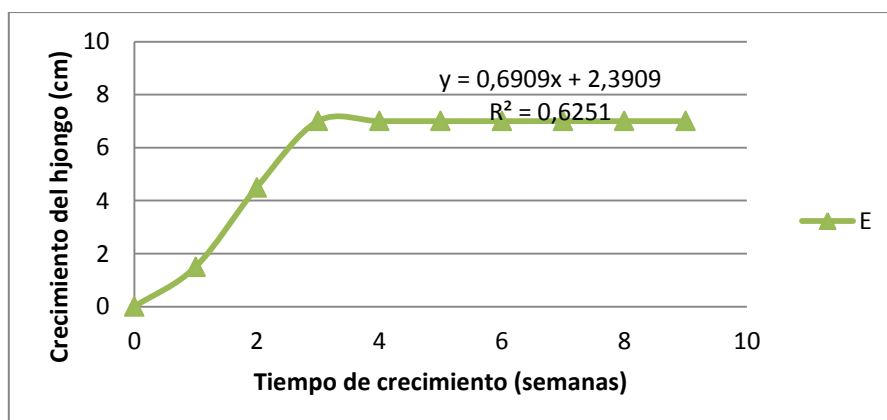


**Gráfico 16.** Crecimiento del hongo en función del tiempo para la muestra B calculado y teórico pH 7.

## MUESTRA E

**Tabla 30.** Datos de crecimiento de la muestra E con un pH de 7 en un tiempo de 9 semanas.

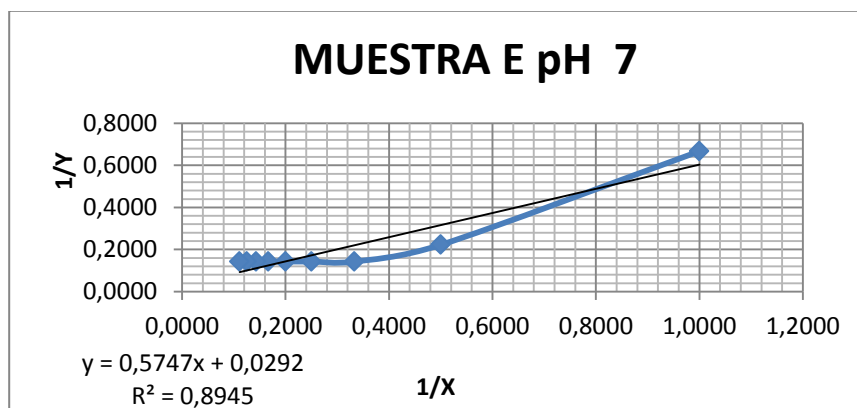
X (Tiempo de crecimiento (semanas))	Y (Crecimiento E(cm))
1	1,5
2	4,5
3	7
4	7
5	7
6	7
7	7
8	7
9	7



**Gráfico 17.** Crecimiento del hongo vs tiempo de crecimiento de la muestra E con pH 7

**Tabla 31. Datos de linealización de la muestra E para el crecimiento del hongo con un pH de 7 en un tiempo de 9 semanas.**

X (Tiempo de crecimiento (semanas))	Y (Crecimiento E(cm))	1/X	1/Y
1	1,5	1,0000	0,6667
2	4,5	0,5000	0,2222
3	7	0,3333	0,1429
4	7	0,2500	0,1429
5	7	0,2000	0,1429
6	7	0,1667	0,1429
7	7	0,1429	0,1429
8	7	0,1250	0,1429
9	7	0,1111	0,1429



**Gráfico 18. Curva (1/Y) vs (1/X) .Linealización para la muestra E con pH 7.**

$$1/Y = 0,5747(1/X) + 0,0292$$

$$b = \frac{1}{K1}$$

$$K1 = \frac{1}{0,0292}$$

$$K1 = 34,2465$$

$$m = \frac{k2}{K1} = 0,5747$$

$$K2 = m * K1$$

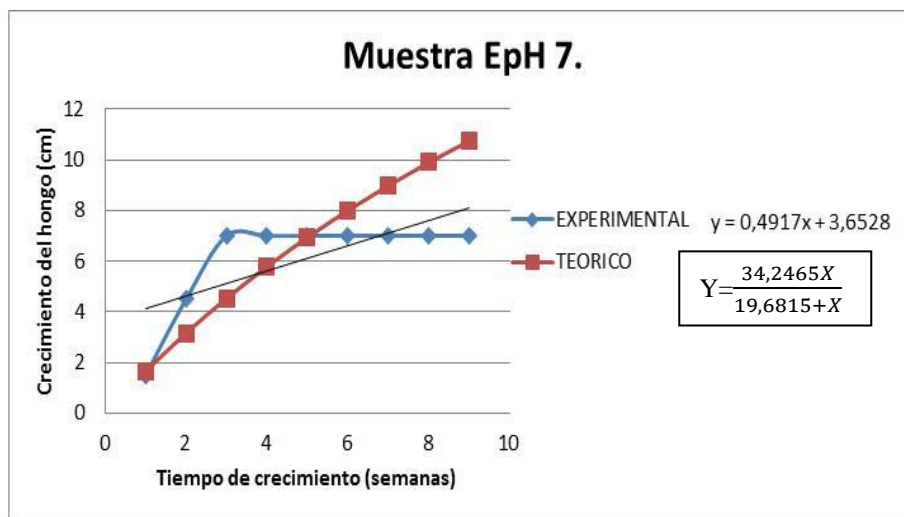
$$K2 = 0,5747 * 34,2465$$

$$K2 = 19,6815$$

$$y = \frac{34,2465X}{19,6815 + X}$$

**Tabla 32. Crecimiento del hongo de la muestra con un pH de 7 experimental y teórico.\***

Tiempo de crecimiento (semanas)	Crecimiento E (cm)		%E
	Experimental	Calculado	
1	1,5	1,6559	9,41481974
2	4,5	3,159	-42,4501425
3	7	4,5296	-54,5390321
4	7	5,7845	-21,0130521
5	7	6,9376	-0,89944649
6	7	8,001	12,5109361
7	7	8,9847	22,0897748
8	7	9,8972	29,2729257
9	7	10,746	34,8594826



**Gráfico 19. Crecimiento del hongo en función del tiempo para la muestra E calculado y experimental pH 7.**

**Tabla 33. Datos de crecimiento del grupo de un pH de 7.**

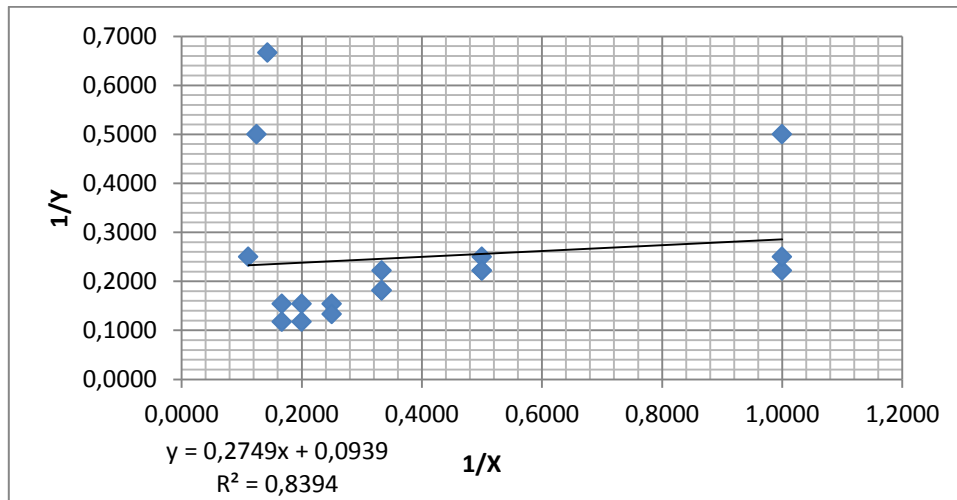
Y (crecimiento del hongo) cm	X(tiempo de crecimiento )semanas
1	2,5
2	6
3	7
4	8
5	8
6	9,5
1	2,5
2	6

Continuación de Tabla 35.

3	8
1	1,5
2	4,5
3	7
4	7
5	7
6	7
7	7
8	7
9	7

**Tabla 34. Datos de linealización de las muestra con un pH de 7.**

<b>Y (crecimiento del hongo) cm</b>	<b>X(tiempo de crecimiento) semanas</b>	<b>1/Y</b>	<b>1/X</b>
1	2,5	1,000	0,400
2	6	0,500	0,167
3	7	0,333	0,143
4	8	0,250	0,125
5	8	0,200	0,125
6	9,5	0,167	0,105
1	2,5	1,000	0,400
2	6	0,500	0,167
3	8	0,333	0,125
1	1,5	1,000	0,667
2	4,5	0,500	0,222
3	7	0,333	0,143
4	7	0,250	0,143
5	7	0,200	0,143
6	7	0,167	0,143
7	7	0,143	0,143
8	7	0,125	0,143
9	7	0,111	0,143



**Gráfico 20. Curva (1/Y) vs (1/X) .Linealización para las muestras con un pH 7.**

$$1/Y = 0,2749(1/X) + 0,0939$$

$$b = \frac{1}{K1}$$

$$K1 = \frac{1}{0,0939}$$

$$\underline{K1 = 10,6496}$$

$$m = \frac{k2}{K1} = 0,2749$$

$$K2 = m * K1$$

$$K2 = 0,2749 * 10,6496$$

$$\underline{K2 = 2,9275}$$

$$y = \frac{10,6496X}{2,9275 + X}$$

**Tabla 35. Crecimiento del hongo de la muestras del crecimiento del hongo con un pH de 7 experimental y calculado.**

Y (crecimiento del hongo) Cm	x(tiempo de crecimiento ) semanas	Crecimiento calculado del hongo (cm)	%E
2,5	1	2,7115	7,80011064
6	2	4,3225	-38,8085599
7	3	5,3899	-29,8725394
8	1	2,7115	-195,039646
8	2	4,3225	-85,0780798
9,5	3	5,3899	-76,2555892
2,5	4	6,1491	59,3436438
6	5	6,7168	10,6717485
8	6	7,1573	-11,773993



Continuación de la Tabla 37.

1,5	1	2,7115	44,6800664
4,5	2	4,3225	-4,1064199
7	3	5,3899	-29,8725394
7	4	6,1491	-13,8377974
7	5	6,7168	-4,21629347
7	6	7,1573	2,19775614
7	7	7,5091	6,77977387
7	8	7,7965	10,2161226
7	9	8,0357	12,888734

### 3.6.1.2 Linealización de muestras correspondientes al grupo de pH 6,63.

#### MUESTRA J

Tabla 36. Datos de crecimiento de la muestra J con un pH de 6,63 en un tiempo de 3 semanas.

X (Tiempo de crecimiento (semanas))	Y (Crecimiento J (cm))
1	5
2	8
3	8,5

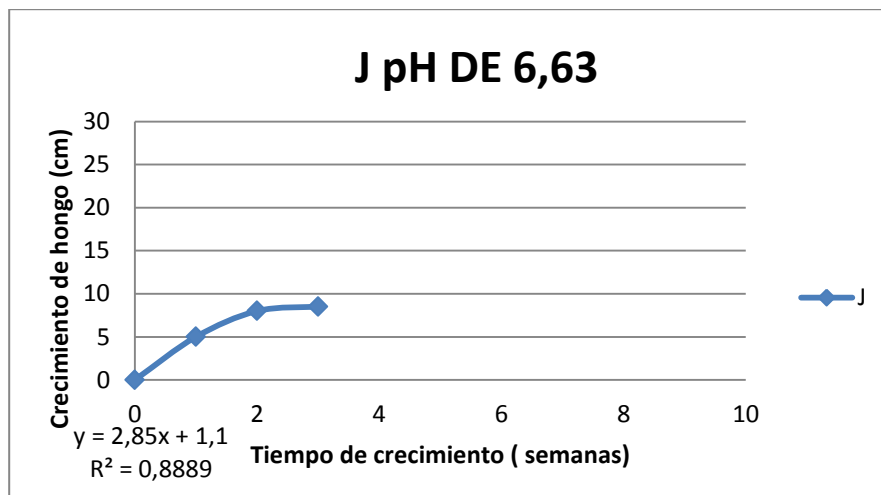
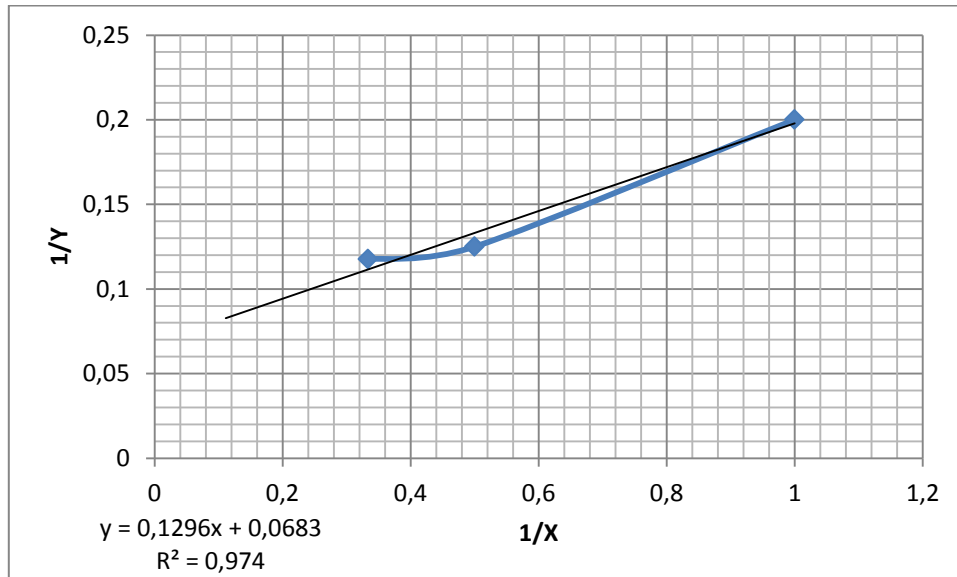


Gráfico 21. Crecimiento del hongo vs tiempo de crecimiento para la muestra J pH de 6,63

**Tabla 37. Datos de linealización de la muestra J para el crecimiento del hongo con un pH de 6,63 en un tiempo de 3 semanas.**

X (Tiempo de crecimiento (semanas))	Y (Crecimiento J (cm))	1/X	1/Y
1	5	1,0000	0,2000
2	8	0,5000	0,1250
3	8,5	0,3333	0,1176



**Gráfico 22. Curva (1/Y) vs (1/X) .Linealización para la muestra J con pH 6,63.**

$$1/Y = 0,1296(1/X) + 0,0683$$

$$b = \frac{1}{K1}$$

$$K1 = \frac{1}{0,0683}$$

$$K1 = 14,6413$$

$$m = \frac{k2}{K1} = 0,1296$$

$$K2 = m * K1$$

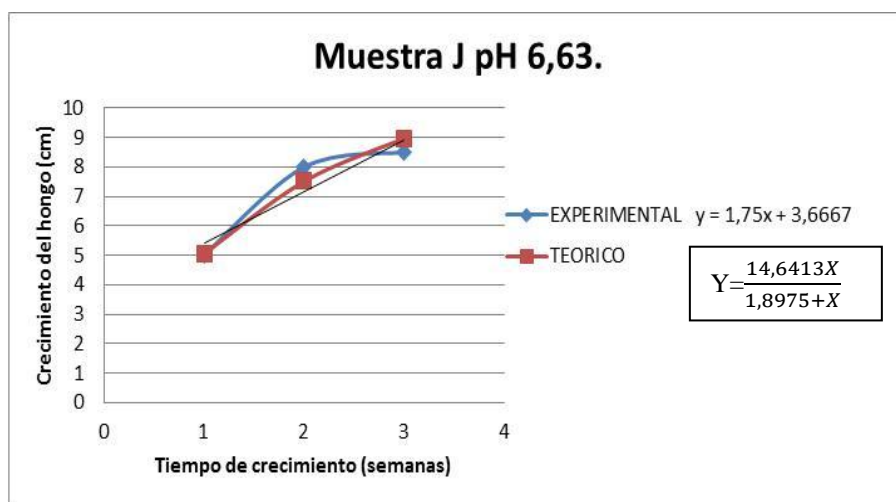
$$K2 = 0,1296 * 14,6413$$

$$K2 = 1,8975$$

$$y = \frac{14,6413X}{1,8975 + X}$$

**Tabla 38. Crecimiento del hongo de la muestra J con un pH de 6,63 experimental y teórico.**

Tiempo de crecimiento (semanas)	Crecimiento C (cm)		%E
	Experimental	Calculado	
1	5	5,053	1,04888185
2	8	7,5131	-6,48068041
3	8,5	8,9686	5,22489575

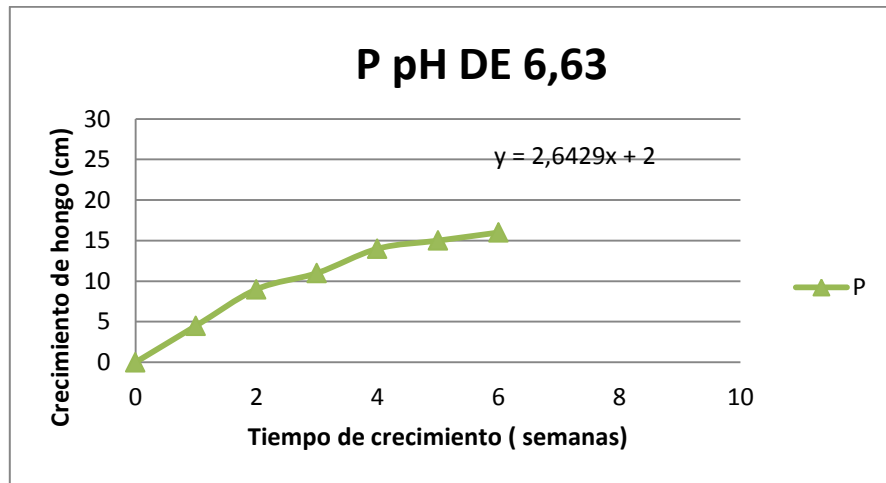


**Gráfico 23. Crecimiento del hongo en función del tiempo para la muestra J teórico y experimental pH 6,63**

## MUESTRA P

**Tabla 39. Datos de crecimiento de la muestra P para el crecimiento del hongo con un pH de 6,63 en un tiempo de 6 semanas.**

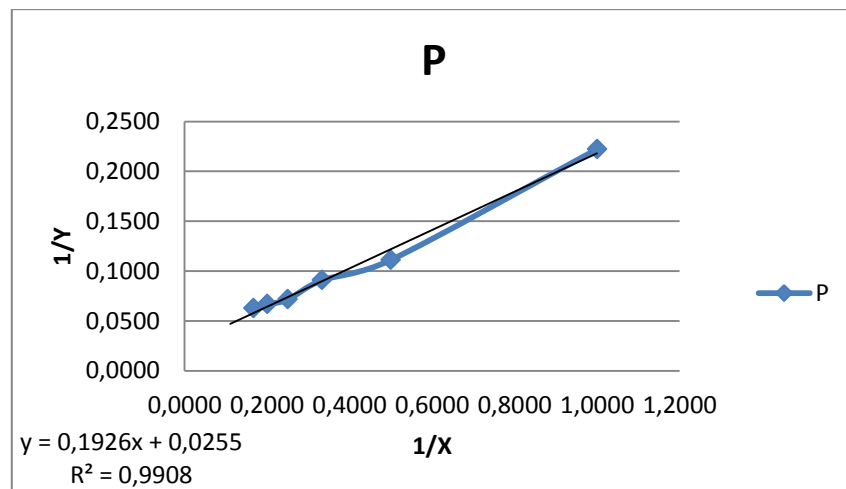
X (Tiempo de crecimiento (semanas))	Y (Crecimiento P (cm))
1	4,5
2	9
3	11
4	14
5	15
6	16



**Gráfico 24. Crecimiento del hongo vs tiempo de crecimiento de la muestra P con pH 6,63.**

**Tabla 40. Datos de linealización de la muestra P para el crecimiento del hongo con un pH de 7,5 en un tiempo de 6 semanas.**

X (Tiempo de crecimiento (semanas))	Y (Crecimiento P (cm))	1/X	1/Y
1	4,5	1,0000	0,2222
2	9	0,5000	0,1111
3	11	0,3333	0,0909
4	14	0,2500	0,0714
5	15	0,2000	0,0667
6	16	0,1667	0,0625



**Gráfico 25. Curva (1/Y) vs (1/X). Linealización para la muestra P con pH 6,63.**

$$1/Y=0,1926(1/X)+0,0255$$

$$b = \frac{1}{K1}$$

$$K1 = \frac{1}{0,0255}$$

$$K1=39,2156$$

$$m = \frac{k2}{K1} = 0,1926$$

$$K2 = m * K1$$

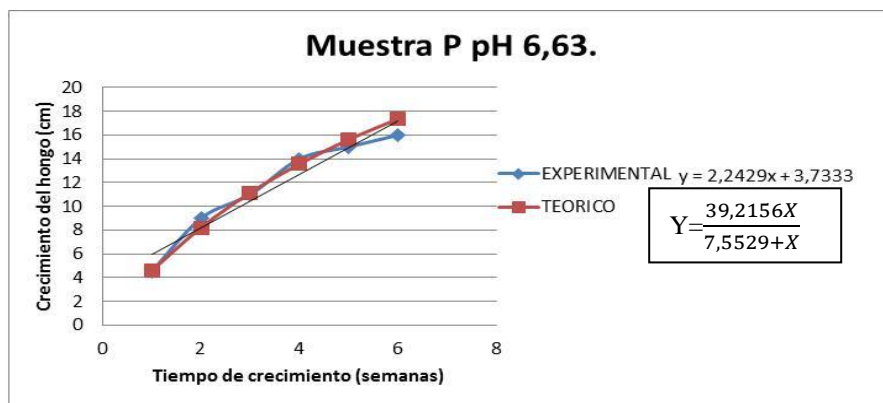
$$K2 = 0,1926 * 39,2156$$

$$K2 = 7,5529$$

$$y = \frac{39,2156X}{7,5529 + X}$$

**Tabla 41. Crecimiento del hongo de la muestra P para el crecimiento del hongo con un pH de 6,63 experimental y calculado.**

Tiempo de crecimiento (semanas)	Crecimiento C (cm)		%E
	Experimental	Calculado	
1	4,5	4,585	1,85387132
2	9	8,2101	-9,62107648
3	11	11,148	1,32759239
4	14	13,5770	-3,11556308
5	15	15,62	3,96927017
6	16	17,361	7,83941017

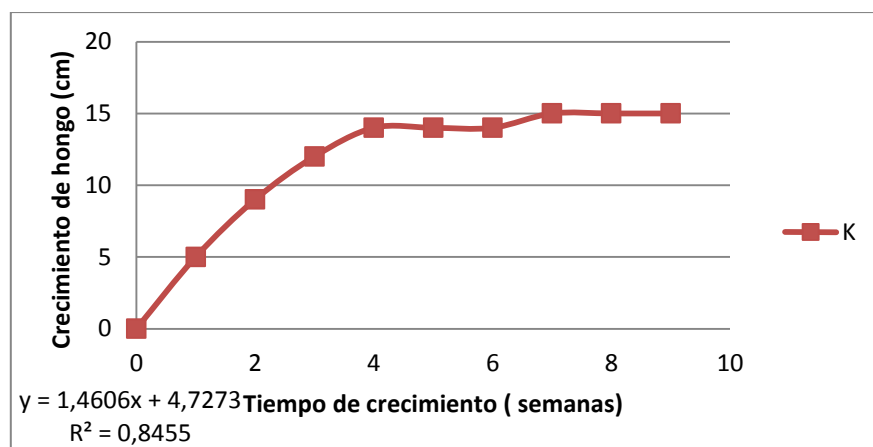


**Gráfico 26. Crecimiento del hongo en función del tiempo para la muestra P calculado y experimental pH 6,63.**

# MUESTRA K.

**Tabla 42. Datos de crecimiento de la muestra J para el crecimiento del hongo con un pH de 6,63 en un tiempo de 9 semanas.**

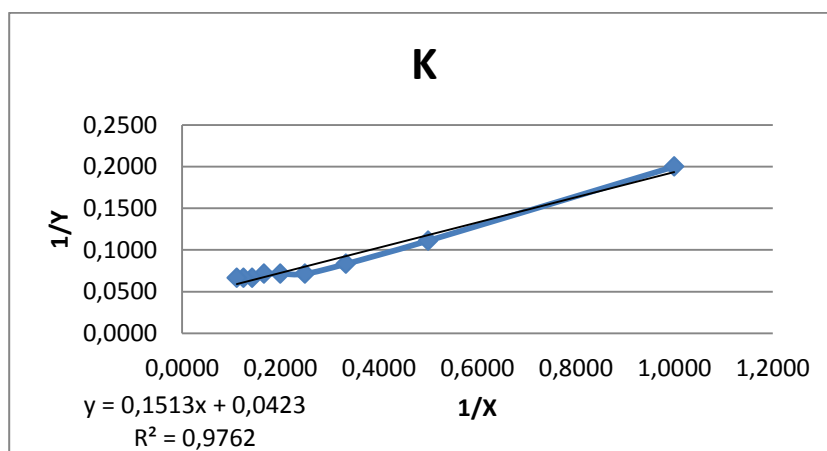
X (Tiempo de crecimiento (semanas))	Y (Crecimiento K(cm))
1	5
2	9
3	12
4	14
5	14
6	14
7	15
8	15
9	15



**Gráfico 27. Crecimiento del hongo vs tiempo de crecimiento de la muestra K con pH 6,63**

**Tabla 43. Datos de linealización de la muestra K para el crecimiento del hongo con un pH de 6.63 en un tiempo de 9 semanas.**

X (Tiempo de crecimiento (semanas))	Y (Crecimiento K(cm))	1/X	1/Y
1	5	1,0000	0,2000
2	9	0,5000	0,1111
3	12	0,3333	0,0833
4	14	0,2500	0,0714
5	14	0,2000	0,0714
6	14	0,1667	0,0714
7	15	0,1429	0,0667
8	15	0,1250	0,0667
9	15	0,1111	0,0667



**Gráfico 28. Curva (1/Y) vs (1/X) .Linealización para la muestra K con pH 6,63.**

$$1/Y = 0,1513(1/X) + 0,0423$$

$$b = \frac{1}{K1}$$

$$K1 = \frac{1}{0,0423}$$

$$K1 = 23,6407$$

$$m = \frac{k2}{K1} = 0,1513$$

$$K2 = m * K1$$

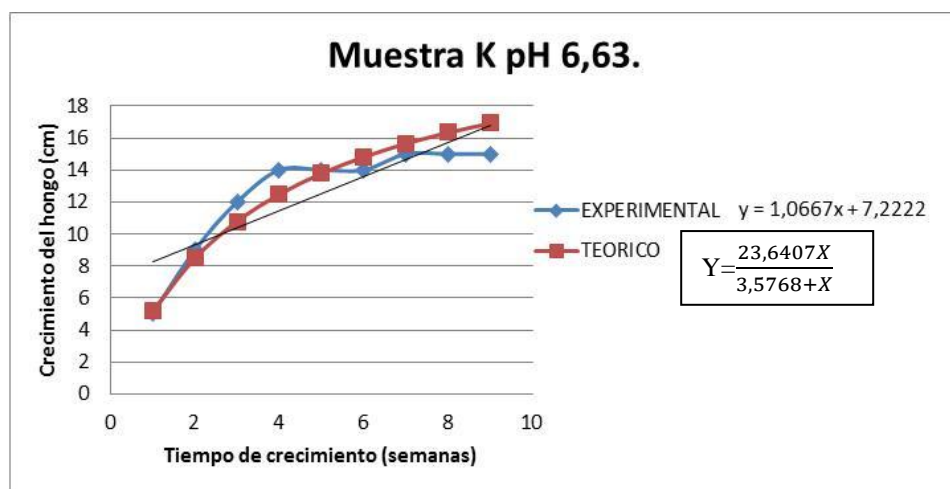
$$K2 = 0,1513 * 23,6407$$

$$K2 = 3,5768$$

$$y = \frac{23,6407X}{3,5768 + X}$$

**Tabla 44. Crecimiento del hongo de la muestra K con un pH de 6,63 experimental y calculado.**

Tiempo de crecimiento (semanas)	Crecimiento C (cm)		%E
	Experimental	Calculado	
1	5	5,1653	3,20020134
2	9	8,4782	-6,15460829
3	12	10,783	-11,286284
4	14	12,4800	-12,1794872
5	14	13,781	-1,58914447
6	14	14,811	5,47565998
7	15	15,646	4,12885082
8	15	16,336	8,17825661
9	15	16,917	11,3317964



**Gráfico 29. Crecimiento del hongo en función del tiempo para la muestra K calculado y experimental pH 6,63.**

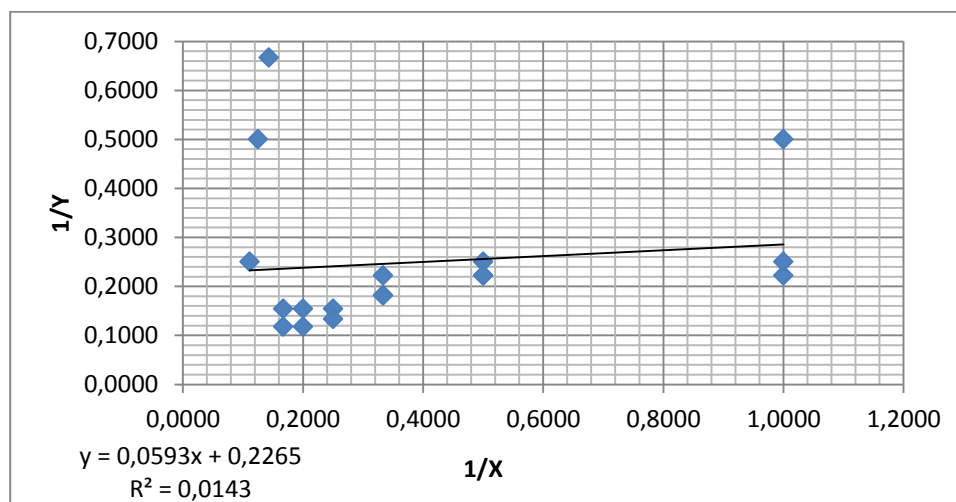
**Tabla 45. Datos de crecimiento del grupo de muestras con pH de 6,63.**

Y (crecimiento del hongo) cm	x(tiempo de crecimiento )semanas
5	1
9	2
12	3
14	1
14	2
14	3
15	4
15	5
15	6
4,5	1
9	2
11	3
14	4
15	5
16	6
5	7
8	8
8,5	9



**Tabla 46. Datos de linealización de la muestra con un pH de 6,63.**

Y (crecimiento del hongo) cm	x(tiempo de crecimiento ) semanas	1/Y	1/X
5	1	0,2000	1,0000
9	2	0,1111	0,5000
12	3	0,0833	0,3333
14	1	0,0714	1,0000
14	2	0,0714	0,5000
14	3	0,0714	0,3333
15	4	0,0667	0,2500
15	5	0,0667	0,2000
15	6	0,0667	0,1667
4,5	1	0,2222	1,0000
9	2	0,1111	0,5000
11	3	0,0909	0,3333
14	4	0,0714	0,2500
15	5	0,0667	0,2000
16	6	0,0625	0,1667
5	7	0,2000	0,1429
8	8	0,1250	0,1250
8,5	9	0,1176	0,1111



**Gráfico 30. Curva (1/Y) vs (1/X) .Linealización para las muestras con pH6,63 .**

$$1/Y = 0,0765(1/X) + 0,074$$

$$b = \frac{1}{K1}$$

$$K1 = \frac{1}{0,074}$$

$$K1=13,5135$$

$$m = \frac{k2}{K1} = 0,0765$$

$$K2 = m * K1$$

$$K2 = 0,0765 * 13,5135$$

$$K2 = 1,0338$$

$$y = \frac{13,5135X}{1,0338 + X}$$

**Tabla 47. Crecimiento del hongo de la con pH de 6,63 experimental y calculado.**

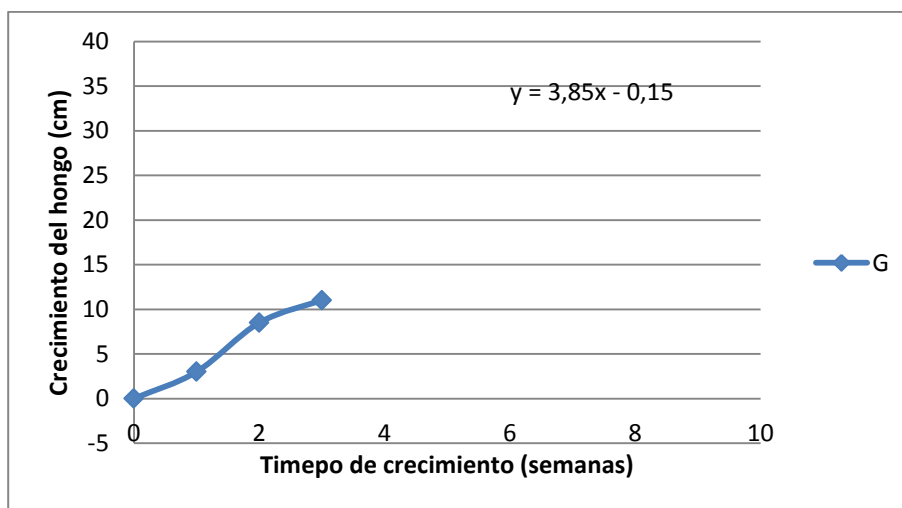
<b>Y (crecimiento del hongo) cm</b>	<b>x(tiempo de crecimiento)semanas</b>	<b>Crecimiento calculado del hongo (cm)</b>	<b>%E</b>
5	1	6,6444	24,7486605
9	2	8,9086	-1,0259749
12	3	10,05	-19,4029851
14	1	6,6444	-110,703751
14	2	8,9086	-57,1515165
14	3	10,05	-39,3034826
15	4	10,738	-39,6908177
15	5	11,198	-33,9524915
15	6	11,527	-30,1292617
4,5	1	6,6444	32,2737945
9	2	8,9086	-1,0259749
11	3	10,05	-9,45273632
14	4	10,738	-30,3780965
15	5	11,198	-33,9524915
16	6	11,527	-38,8045458
5	7	11,774	57,5335485
8	8	11,967	33,1494944
8,5	9	12,121	29,8737728

### 3.6.1.4 Linealización de muestras correspondientes al grupo de pH 6,29.

#### MUESTRA G

**Tabla 48.** Datos de crecimiento de la muestra J para el crecimiento del hongo con un pH de 6,29 en un tiempo de 3 semanas.

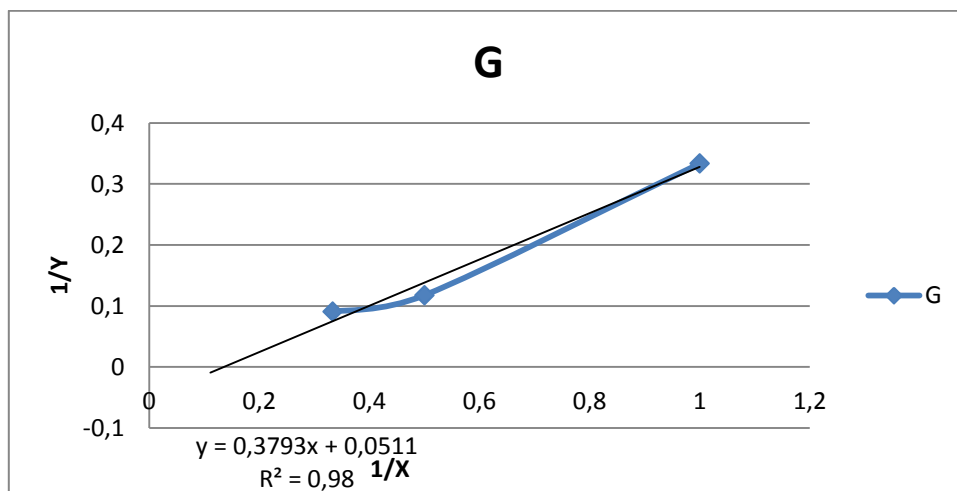
X (Tiempo de crecimiento (semanas))	Y (Crecimiento G (cm))
1	3
2	8,5
3	11



**Gráfico 31.** Crecimiento del hongo vs tiempo de crecimiento de la muestra G a pH 6,29.

**Tabla 49.** Datos de linealización de la muestra G para el crecimiento del hongo con un pH de 6,29 en un tiempo de 3 semanas.

X (Tiempo de crecimiento (semanas))	Y (Crecimiento G (cm))	1/X	1/Y
1	3	1,0000	0,3333
2	8,5	0,5000	0,1176
3	11	0,3333	0,0909



**Gráfico 32. Curva (1/Y) vs (1/X) .Linealización para la muestra G con pH 6,29.**

$$1/Y = 0,3793(1/X) + 0,0511$$

$$b = \frac{1}{K1}$$

$$K1 = \frac{1}{0,0511}$$

$$K1 = 19,5694$$

$$m = \frac{k2}{K1} = 0,3793$$

$$K2 = m * K1$$

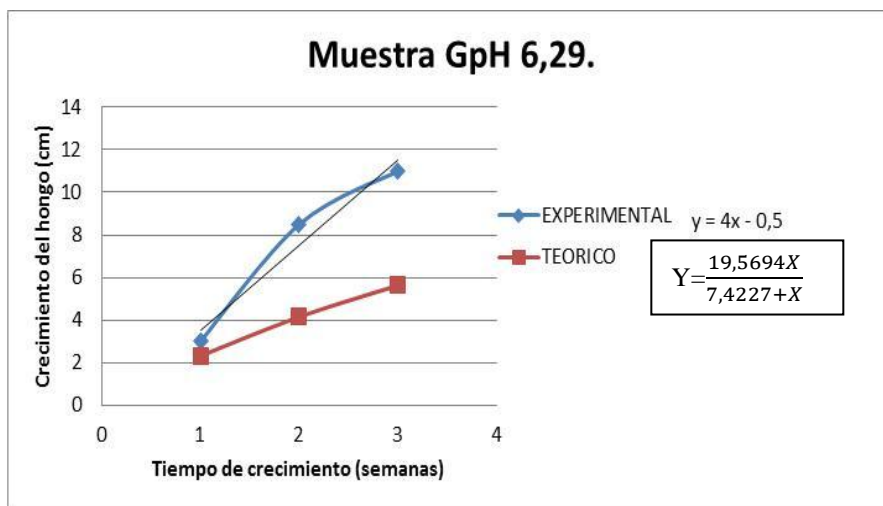
$$K2 = 0,3793 * 19,5694$$

$$K2 = 7,4227$$

$$y = \frac{19,5694X}{7,4227 + X}$$

**Tabla 50. Crecimiento del hongo de la muestra G para el crecimiento del hongo con un pH de 6,29 experimental y calculado.**

Tiempo de crecimiento (semanas)	Crecimiento C (cm)		%E
	Experimental	Calculado	
1	3	2,3234	-29,1211156
2	8,5	4,1536	-104,641757
3	11	5,6327	-95,2882277

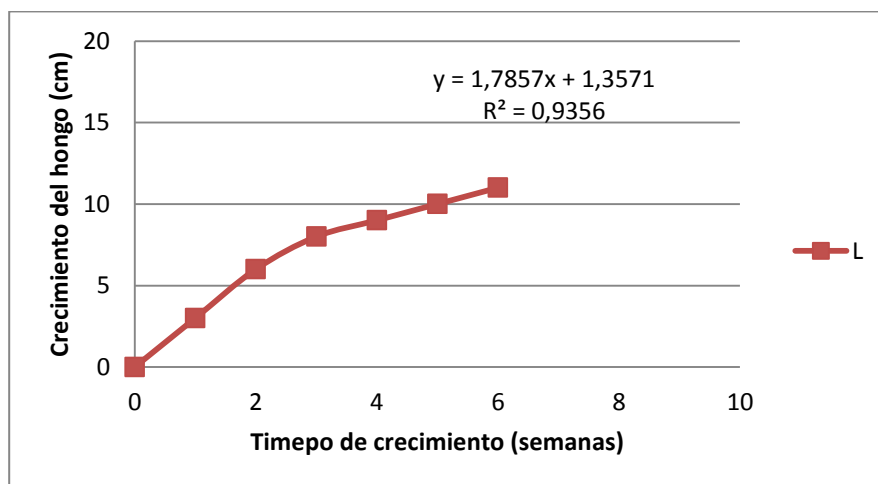


**Gráfico 33.** Crecimiento del hongo en función del tiempo para la muestra G calculado y experimental pH 6,29.

## MUESTRA L

**Tabla 51.** Datos de crecimiento de la muestra L para el crecimiento del hongo con un pH de 6,29 en un tiempo de 6 semanas.

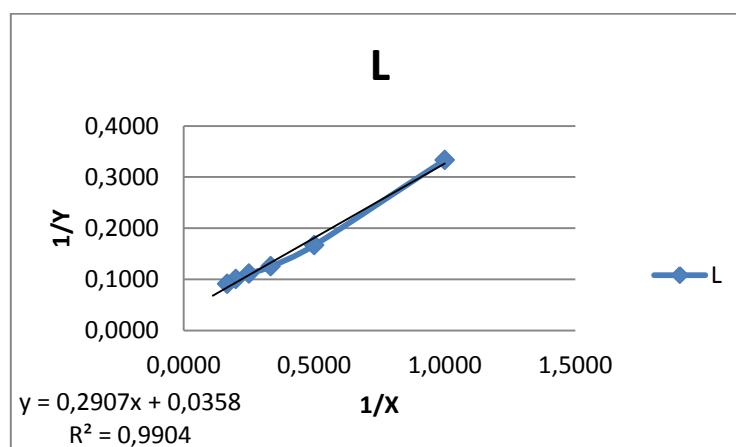
X (Tiempo de crecimiento (semanas))	Y (Crecimiento L(cm))
1	3
2	6
3	8
4	9
5	10
6	11



**Gráfico 34.** Crecimiento del hongo vs tiempo de crecimiento para la muestra L un pH de 6,29.

**Tabla 52. Datos de linealización de la muestra L para el crecimiento del hongo con un pH de 6,29 en un tiempo de 6 semanas.**

X (Tiempo de crecimiento (semanas))	Y (Crecimiento L(cm))	1/X	1/Y
1	3	1,0000	0,3333
2	6	0,5000	0,1667
3	8	0,3333	0,1250
4	9	0,2500	0,1111
5	10	0,2000	0,1000
6	11	0,1667	0,0909



**Gráfico 35. Curva (1/Y) vs (1/X) .Linealización para la muestra L con pH 6,29.**

$$1/Y = 0,2907(1/X) + 0,0358$$

$$b = \frac{1}{K1}$$

$$K1 = \frac{1}{0,0358}$$

$$\underline{K1 = 27,9329}$$

$$m = \frac{k2}{K1} = 0,2907$$

$$K2 = m * K1$$

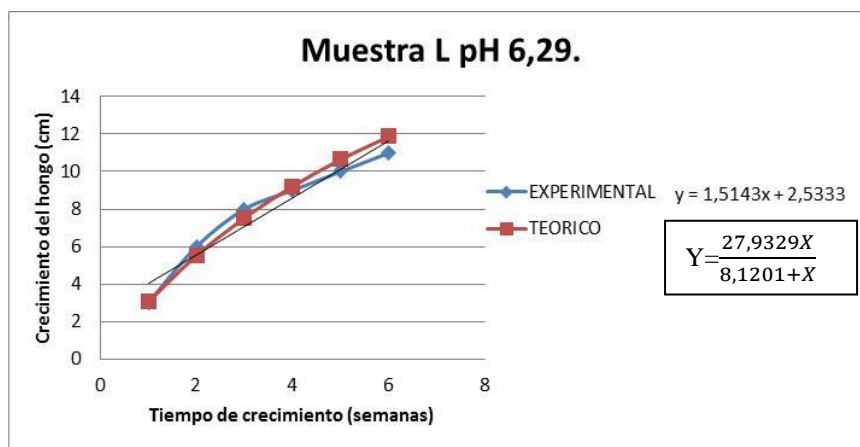
$$K2 = 0,0358 * 27,9329$$

$$\underline{K2 = 8,1201}$$

$$y = \frac{27,9329X}{8,1201 + X}$$

**Tabla 53. Crecimiento del hongo de la muestra L para el crecimiento del hongo con un pH de 6,29 experimental y calculado.**

Tiempo de crecimiento (semanas)	Crecimiento C (cm)		%E
	Experimental	Calculado	
1	3	3,0627	2,04721324
2	6	5,5202	-8,69171407
3	8	7,5357	-6,16133869
4	9	9,2187	2,37235185
5	10	10,645	6,05918271
6	11	11,869	7,32159407

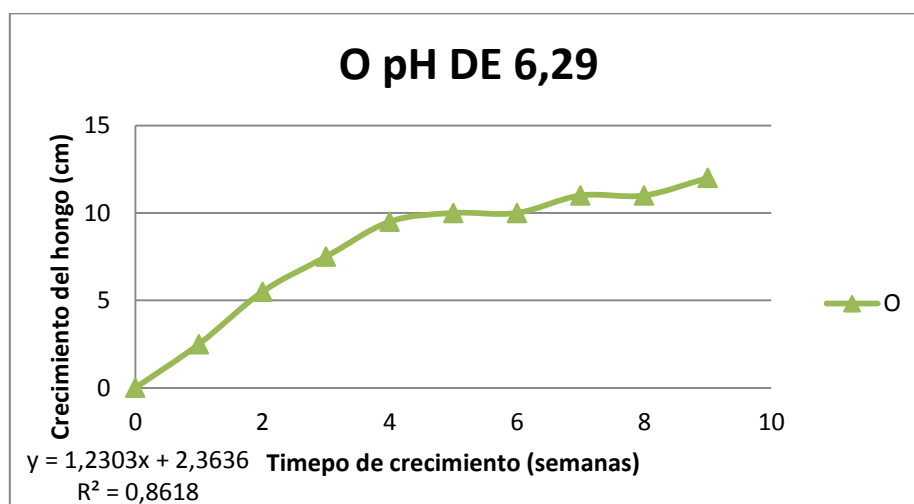


**Gráfico 36. Crecimiento del hongo en función del tiempo para la muestra L calculado y experimental pH 6,29.**

## MUESTRA O

**Tabla 54. Datos de crecimiento de la muestra O para el crecimiento del hongo con un pH de 6,29 en un tiempo de 9 semanas.**

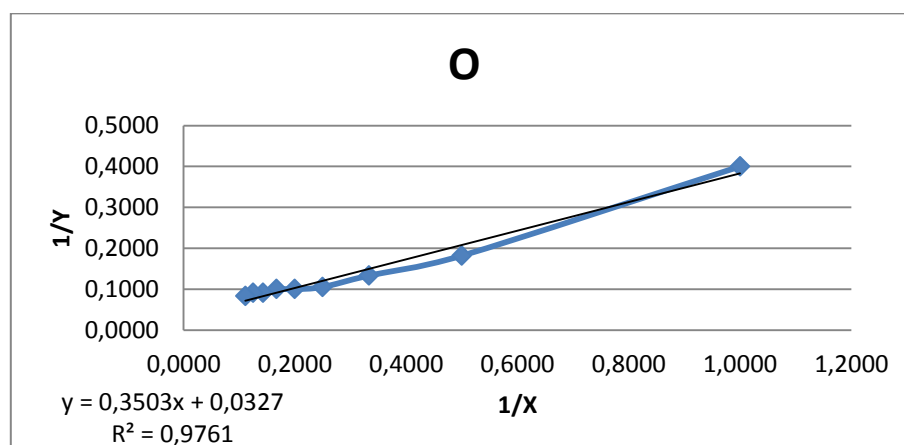
X (Tiempo de crecimiento (semanas))	Y (Crecimiento O (cm))
1	2,5
2	5,5
3	7,5
4	9,5
5	10
6	10
7	11
8	11
9	12



**Gráfico 37. Crecimiento del hongo vs tiempo de crecimiento para la muestra O pH de 6,29.**

**Tabla 55. Datos de linealización de la muestra K para el crecimiento del hongo con un pH de 6.29 en un tiempo de 9 semanas.**

X (Tiempo de crecimiento (semanas))	Y (Crecimiento O (cm))	1/X	1/Y
1	2,5	1,0000	0,4000
2	5,5	0,5000	0,1818
3	7,5	0,3333	0,1333
4	9,5	0,2500	0,1053
5	10	0,2000	0,1000
6	10	0,1667	0,1000
7	11	0,1429	0,0909
8	11	0,1250	0,0909
9	12	0,1111	0,0833



**Gráfico 38. Curva (1/Y) vs (1/X) .Linealización para la muestra O con pH 6,29.**



$$1/Y=0,3503(1/X)+0,0327$$

$$b = \frac{1}{K1}$$

$$K1 = \frac{1}{0,0327}$$

$$K1=30,5810$$

$$m = \frac{k2}{K1} = 0,3503$$

$$K2 = m * K1$$

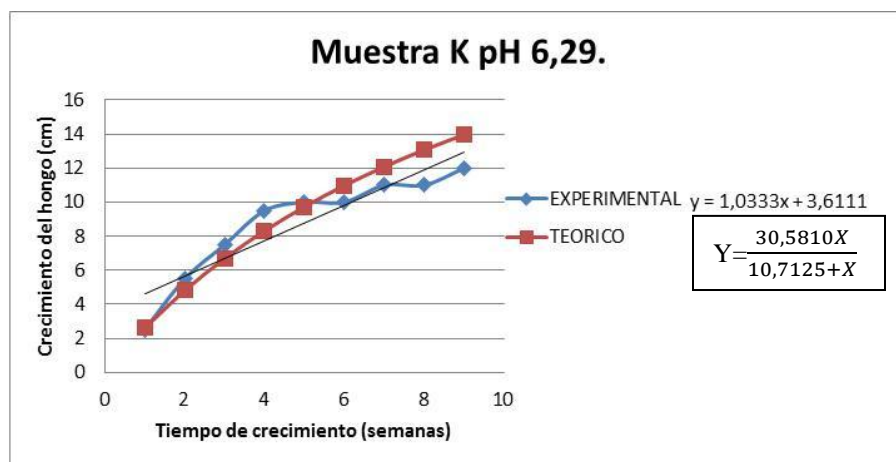
$$K2 = 0,3503 * 30,5810$$

$$K2 = 10,7125$$

$$y = \frac{30,5810X}{10,7125 + X}$$

**Tabla 56. Crecimiento del hongo de la muestra K para el crecimiento del hongo con un pH de 6,29 experimental y calculado.**

Tiempo de crecimiento (semanas)	Crecimiento C (cm)		%E
	Experimental	Calculado	
1	2,5	2,6109	4,24757
2	5,5	4,8111	-14,3189
3	7,5	6,6904	-12,1009
4	9,5	8,3142	-14,2623
5	10	9,7314	-2,7601
6	10	10,978	8,9087
7	11	12,085	8,97807
8	11	13,074	15,8635
9	12	13,962	14,0524



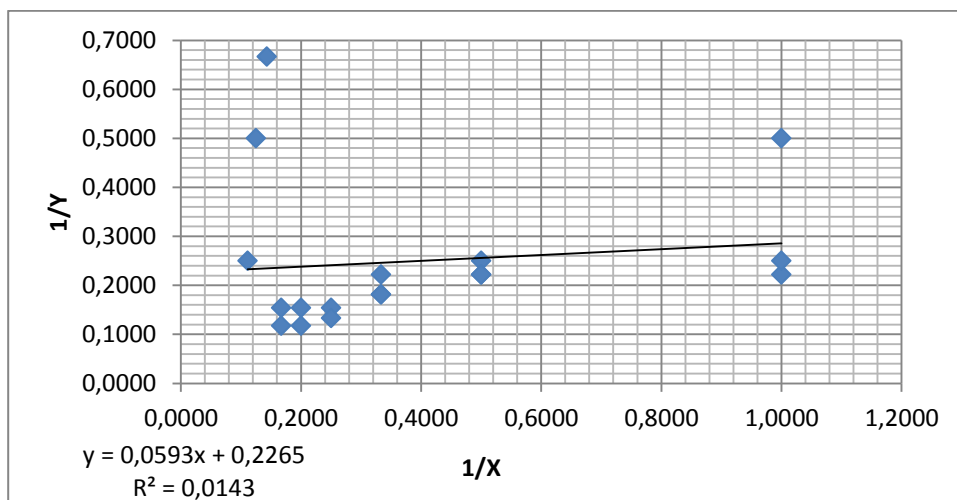
**Gráfico 39. Crecimiento del hongo en función del tiempo para la muestra K calculado y experimental pH 6,29.**

**Tabla 57. Datos de crecimiento del grupo de muestras para el crecimiento del hongo con un pH de 6,29.**

<b>Y (crecimiento del hongo) cm</b>	<b>x(tiempo de crecimiento) semanas</b>
2,5	1
5,5	2
7,5	3
9,5	1
10	2
10	3
11	4
11	5
12	6
3	1
6	2
8	3
9	4
10	5
11	6
3	7
8,5	8
11	9

**Tabla 58. Datos de linealización de la muestra con un pH de 6,29.**

<b>Y (crecimiento del hongo) cm</b>	<b>x(tiempo de crecimiento) semanas</b>	<b>1/Y</b>	<b>1/X</b>
2,5	1	0,4000	1,0000
5,5	2	0,1818	0,5000
7,5	3	0,1333	0,3333
9,5	1	0,1053	1,0000
10	2	0,1000	0,5000
10	3	0,1000	0,3333
11	4	0,0909	0,2500
11	5	0,0909	0,2000
12	6	0,0833	0,1667
3	1	0,3333	1,0000
6	2	0,1667	0,5000
8	3	0,1250	0,3333
9	4	0,1111	0,2500
10	5	0,1000	0,2000
11	6	0,0909	0,1667
3	7	0,3333	0,1429
8,5	8	0,1176	0,1250
11	9	0,0909	0,1111



**Gráfico 40. Curva (1/Y) vs (1/X) .Linealización para grupo de muestras con un pH 6,29.**

$$1/Y = 0,1796(1/X) + 0,0821$$

$$b = \frac{1}{K1}$$

$$K1 = \frac{1}{0,0821}$$

$$\underline{K1 = 12,1802}$$

$$m = \frac{k2}{K1} = 0,1796$$

$$K2 = m * K1$$

$$K2 = 0,1796 * 12,1802$$

$$\underline{K2 = 2,1875}$$

$$y = \frac{12,1802X}{2,1875 + X}$$

**Tabla 59. Crecimiento del hongo de la muestras del crecimiento del hongo con un pH de 6,29 experimental y calculado.**

Y (crecimiento del hongo) cm	x(tiempo de crecimiento )semanas	Crecimiento calculado del hongo (cm)	%E
2,5	1	6,6444	62,3743303
5,5	2	8,9086	38,2619
7,5	3	10,0500	25,3731
9,5	1	6,6444	-42,9775
10	2	8,9086	-12,2511
10	3	10,0500	0,4975
11	4	10,7380	-2,4399

Continuación de la Tabla 61.

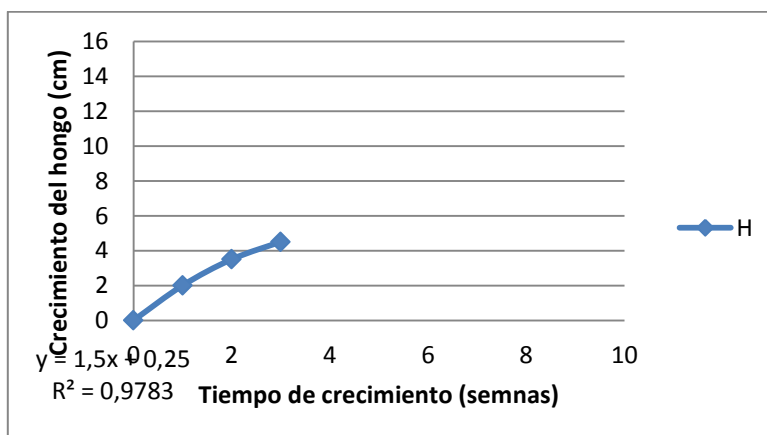
11	5	11,1980	1,7682
12	6	11,5270	-4,1034
3	1	6,6444	54,8492
6	2	8,9086	32,6494
8	3	10,0500	20,3980
9	4	10,7380	16,1855
10	5	11,1980	10,6983
11	6	11,5270	4,5719
3	7	11,7740	74,5201
8,5	8	11,9670	28,9713
11	9	12,1210	9,2484

### 3.6.1.5 Linealización de muestras correspondientes al grupo de pH 5,7.

#### MUESTRA H

**Tabla 60. Datos de crecimiento de la muestra H para el crecimiento del hongo con un pH de 5,7 en un tiempo de 3 semanas.**

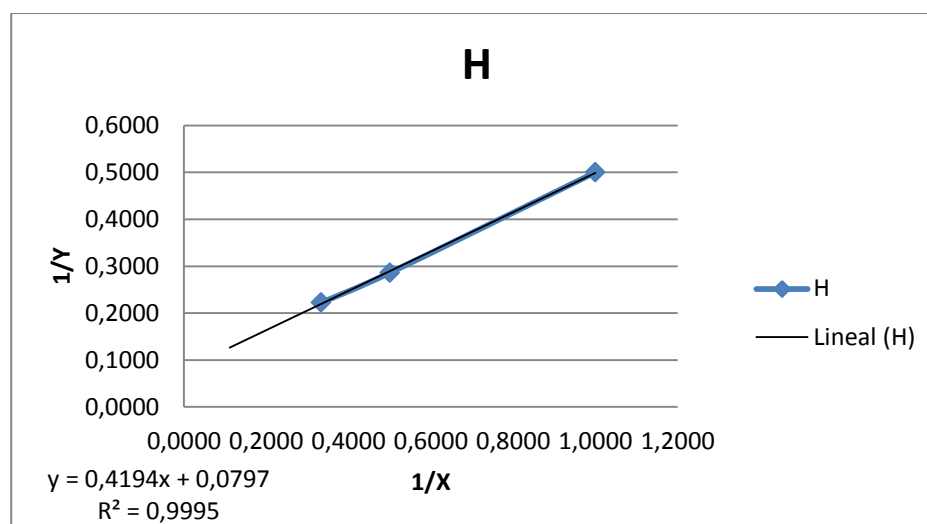
X (Tiempo de crecimiento (semanas))	Y (Crecimiento H(cm))
1	2
2	3,5
3	4,5



**Gráfico 41. Crecimiento del hongo vs tiempo de crecimiento para la muestra H pH de 5,7.**

**Tabla 61. Datos de linealización de la muestra H para el crecimiento del hongo con un pH de 5,7 en un tiempo de 3 semanas.**

X (Tiempo de crecimiento (semanas))	Y (Crecimiento H(cm))	1/X	1/Y
1	2	1,0000	0,5000
2	3,5	0,5000	0,2857
3	4,5	0,3333	0,2222



**Gráfico 42. Curva (1/Y) vs (1/X) .Linealización para la muestra H con pH 5,7.**

$$1/Y = 0,4194(1/X) + 0,0797$$

$$b = \frac{1}{K1}$$

$$K1 = \frac{1}{0,0797}$$

$$\underline{K1 = 12,5471}$$

$$m = \frac{k2}{K1} = 0,4194$$

$$K2 = m * K1$$

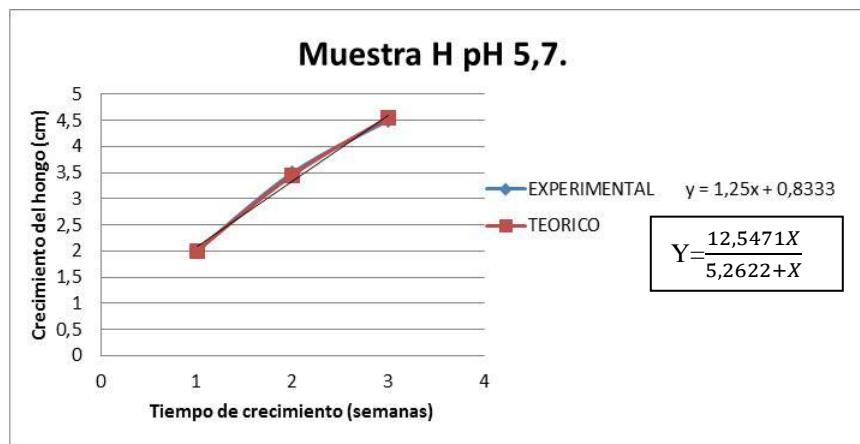
$$K2 = 0,4194 * 12,5471$$

$$\underline{K2 = 5,2622}$$

$$y = \frac{12,5471x}{5,2622 + x}$$

**Tabla 62. Crecimiento del hongo de la muestra H para el crecimiento del hongo con un pH de 5,7 experimental y calculado.**

Tiempo de crecimiento (semanas)	Crecimiento C (cm)		%E
	Experimental	Calculado	
1	2	2,0036	0,17967658
2	3,5	3,4554	-1,29073334
3	4,5	4,5558	1,22481233

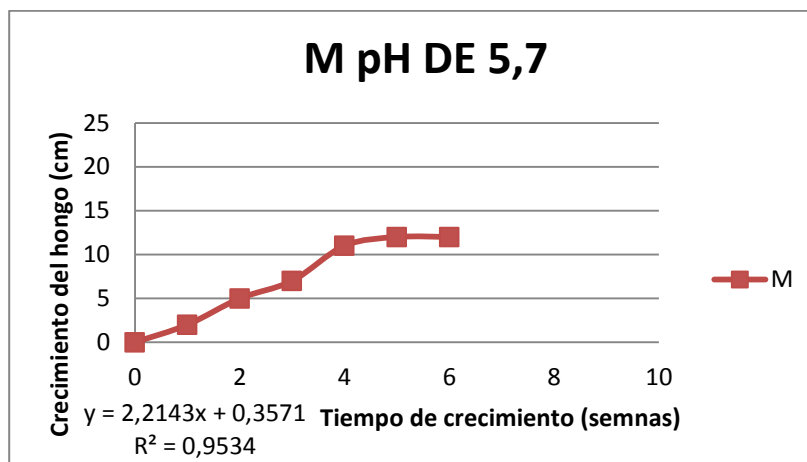


**Gráfico 43. Crecimiento del hongo en función del tiempo para la muestra H calculado y experimental pH 5,7.**

## MUESTRA M

**Tabla 63. Datos de crecimiento de la muestra M para el crecimiento del hongo con un pH de 5,7 en un tiempo de 6 semanas.**

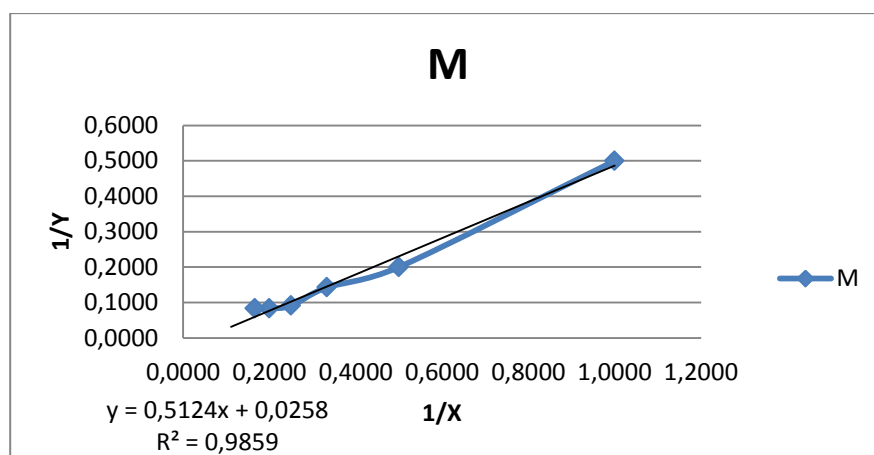
X (Tiempo de crecimiento (semanas))	Y (Crecimiento M(cm))
1	2
2	5
3	7
4	11
5	12
6	12



**Gráfico 44. Crecimiento del hongo vs tiempo de crecimiento para la muestra M pH 5,7.**

**Tabla 64. Datos de linealización de la muestra L para el crecimiento del hongo con un pH de 5,7 en un tiempo de 6 semanas.**

X (Tiempo de crecimiento (semanas))	Y (Crecimiento M(cm))	1/X	1/Y
1	2	1,0000	0,5000
2	5	0,5000	0,2000
3	7	0,3333	0,1429
4	11	0,2500	0,0909
5	12	0,2000	0,0833
6	12	0,1667	0,0833



**Gráfico 45. Curva (1/Y) vs (1/X) .Linealización para la muestra M con pH 5,7.**

$$1/Y = 0,5124(1/X) + 0,0258$$

$$b = \frac{1}{K1}$$

$$K1 = \frac{1}{0,0258}$$

$$K1=38,7596$$

$$m = \frac{k2}{K1} = 0,5124$$

$$K2 = m * K1$$

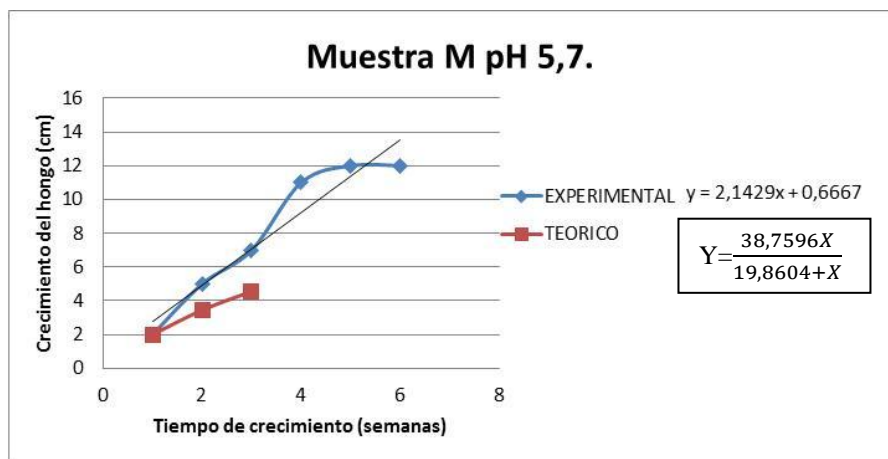
$$K2 = 0,5124 * 38,7596$$

$$K2 = 19,8604$$

$$y = \frac{38,7596X}{19,8604 + X}$$

**Tabla 65. Crecimiento del hongo de la muestra M para el crecimiento del hongo con un pH de 5,7 experimental y calculado.**

Tiempo de crecimiento (semanas)	Crecimiento C (cm)		%E
	Experimental	Calculado	
1	2	1,858	- 7,64262648
2	5	3,5461	- 40,9999718
3	7	5,0861	- 37,6300112
4	11	6,4977	- 69,2906721
5	12	7,7954	- 53,9369372
6	12	8,9928	- 33,4400854



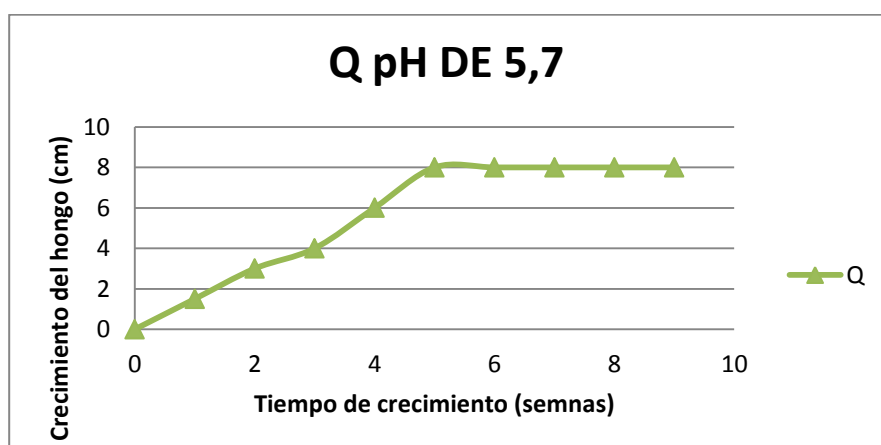
**Gráfico 46. Crecimiento del hongo en función del tiempo para la muestra M calculado y experimental pH 5,7.**



## MUESTRA Q

**Tabla 66. Datos de crecimiento de la muestra Q para el crecimiento del hongo con un pH de 5,7 en un tiempo de 9 semanas.**

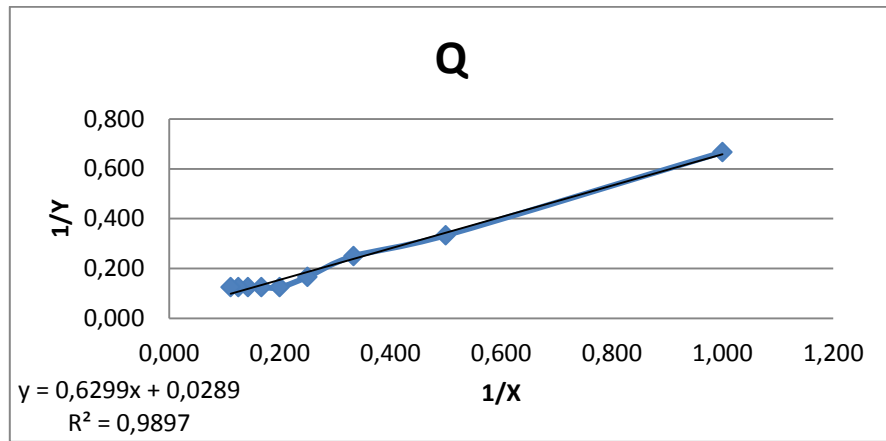
X (Tiempo de crecimiento (semanas))	Y (Crecimiento Q (cm))
1	1,5
2	3
3	4
4	6
5	8
6	8
7	8
8	8
9	8



**Gráfico 47. Crecimiento del hongo vs tiempo de crecimiento para la muestra Q pH de 5,7.**

**Tabla 67. Datos de linealización de la muestra Q para el crecimiento del hongo con un pH de 5,7 en un tiempo de 9 semanas.**

X (Tiempo de crecimiento (semanas))	Y (Crecimiento Q (cm))	1/X	1/Y
1	1,5	1,000	0,667
2	3	0,500	0,333
3	4	0,333	0,250
4	6	0,250	0,167
5	8	0,200	0,125
6	8	0,167	0,125
7	8	0,143	0,125
8	8	0,125	0,125
9	8	0,111	0,125



**Gráfico 48. Curva (1/Y) vs (1/X) .Linealización para la muestra Q con pH 5,7.**

$$1/Y = 0,6299(1/X) + 0,0289$$

$$b = \frac{1}{K1}$$

$$K1 = \frac{1}{0,0289}$$

$$\underline{K1 = 34,6020}$$

$$m = \frac{k2}{K1} = 0,6299$$

$$K2 = m * K1$$

$$K2 = 0,6299 * 34,6020$$

$$\underline{K2 = 21,7958}$$

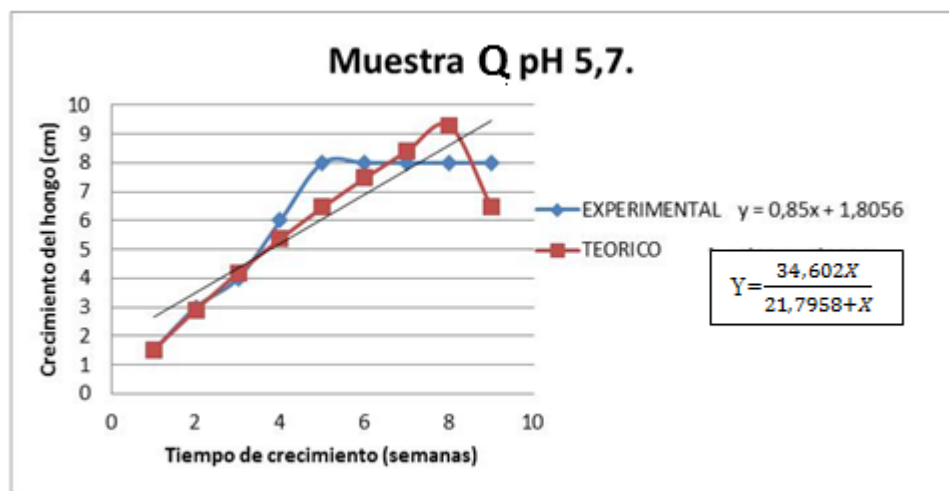
$$y = \frac{34,6020X}{21,7958 + X}$$

**Tabla 68. Crecimiento del hongo de la muestra Q para el crecimiento del hongo con un pH de 5,7 experimental y calculado.**

Tiempo de crecimiento (semanas)	Crecimiento C (cm)		%E
	Experimental	Calculado	
1	1,5	1,5179	1,17926082
2	3	2,9082	-3,15659171
3	4	4,1864	4,4525129
4	6	5,3655	-11,8255521
5	8	6,4566	-23,904222
6	8	7,4691	-7,10795143

Continuación de la Tabla 70.

7	8	8,4114	4,89098129
8	8	9,2904	13,8896065
9	8	6,4566	-23,904222



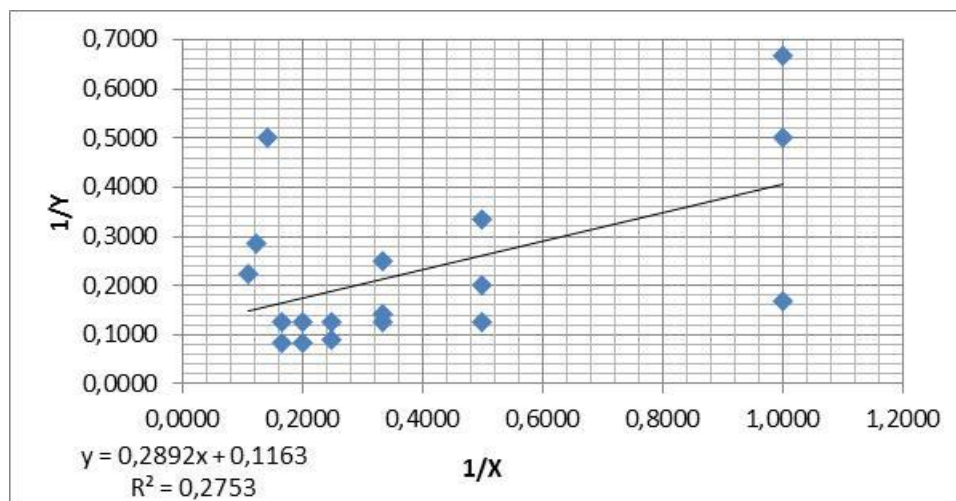
**Gráfico 49.** Crecimiento del hongo en función del tiempo para la muestra Q calculado y experimental pH 5,7.

**Tabla 69.** Datos de crecimiento del grupo de muestras con un pH de 5,7.

Y (crecimiento del hongo) cm	x(tiempo de crecimiento )semanas
1,5	1
3	2
4	3
6	1
8	2
8	3
8	4
8	5
8	6
2	1
5	2
7	3
11	4
12	5
12	6
2	7
3,5	8
4,5	9

**Tabla 70. Datos de linealización de la muestra con un pH de 5,7.**

Y (crecimiento del hongo) cm	x(tiempo de crecimiento) semanas	1/Y	1/X
1,5	1	0,6667	1,0000
3	2	0,3333	0,5000
4	3	0,2500	0,3333
6	1	0,1667	1,0000
8	2	0,1250	0,5000
8	3	0,1250	0,3333
8	4	0,1250	0,2500
8	5	0,1250	0,2000
8	6	0,1250	0,1667
2	1	0,5000	1,0000
5	2	0,2000	0,5000
7	3	0,1429	0,3333
11	4	0,0909	0,2500
12	5	0,0833	0,2000
12	6	0,0833	0,1667
2	7	0,5000	0,1429
3,5	8	0,2857	0,1250
4,5	9	0,2222	0,1111



**Gráfico 50. Curva (1/Y) vs (1/X) .Linealización para las muestras con pH 5,7.**

$$1/Y=0,2892(1/X)+0,1163$$

$$b = \frac{1}{K1}$$

$$K1 = \frac{1}{0,1163}$$

$$\underline{K1=8,5984}$$

$$m = \frac{k2}{K1} = 0,2892$$

$$K2 = m * K1$$

$$K2 = 0,2892 * 8,5984$$

$$\underline{K2 = 2,4866}$$

$$y = \frac{8,5984X}{2,4866 + X}$$

**Tabla 71. Crecimiento del hongo de la muestras del crecimiento del hongo con un pH de 5,7 experimental y calculado.**

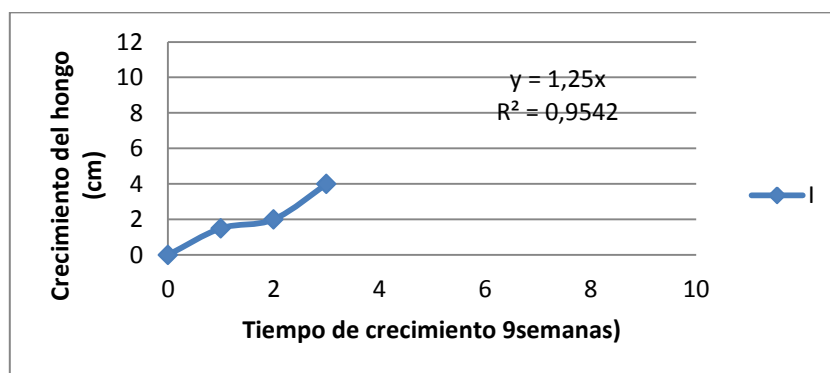
<b>Y (crecimiento del hongo) cm</b>	<b>x(tiempo de crecimiento )semanas</b>	<b>Crecimiento calculado del hongo (cm)</b>	<b>%E</b>
1,5	1	2,4661	39,1752159
3	2	3,8329	21,7303
4	3	4,7014	14,9190
6	1	2,4661	-143,2991
8	2	3,8329	-108,7192
8	3	4,7014	-70,1621
8	4	5,3022	-50,8808
8	5	5,7425	-39,3121
8	6	6,0790	-31,6006
2	1	2,4661	18,9003
5	2	3,8329	-30,4495
7	3	4,7014	-48,8918
11	4	5,3022	-107,4611
12	5	5,7425	-108,9682
12	6	6,0790	-97,4009
2	7	6,3446	68,4771
3,5	8	6,5595	46,6423
4,5	9	6,7370	33,2047

### 3.6.1.6. Linealización de muestras correspondientes al grupo de pH 5,15.

#### MUESTRA I

**Tabla 72. Datos de crecimiento de la muestra I para el crecimiento del hongo con un pH de 5,15 en un tiempo de 3 semanas.**

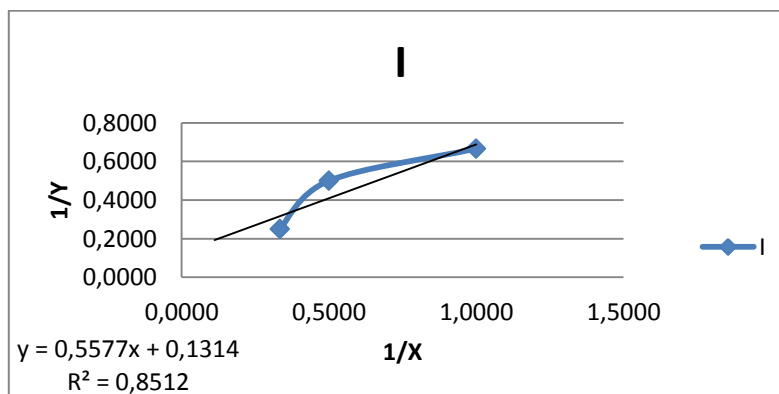
X (Tiempo de crecimiento (semanas))	Y (Crecimiento I (cm))
1	1,5
2	2
3	4



**Gráfico 51. Crecimiento del hongo vs tiempo de crecimiento para la muestra I pH de 5.15.**

**Tabla 73. Datos de linealización de la muestra I para el crecimiento del hongo con un pH de 5,15 en un tiempo de 3 semanas.**

X (Tiempo de crecimiento (semanas))	Y (Crecimiento I (cm))	1/X	1/Y
1	1,5	1,0000	0,6667
2	2	0,5000	0,5000
3	4	0,3333	0,2500



**Gráfico 52. Curva (1/Y) vs (1/X) .Linealización para la muestra I con pH 5,15.**

$$1/Y = 0,5577(1/X) + 0,1314$$

$$b = \frac{1}{K1}$$

$$K1 = \frac{1}{0,1314}$$

$$K1 = 7,6103$$

$$m = \frac{k2}{K1} = 0,5577$$

$$K2 = m * K1$$

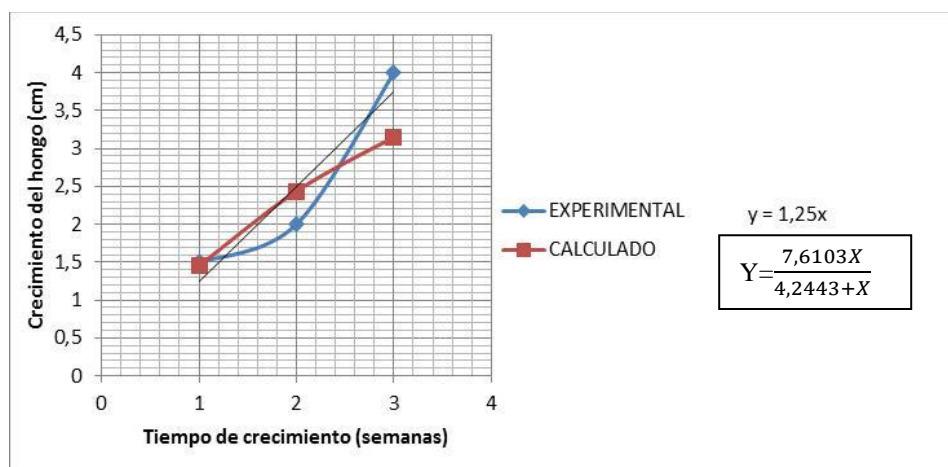
$$K2 = 0,5577 * 12,5471$$

$$K2 = 4,2443$$

$$y = \frac{7,6103X}{4,2443 + X}$$

**Tabla 74. Crecimiento del hongo de la muestra I para el crecimiento del hongo con un pH de 5,15 experimental y calculado.**

Tiempo de crecimiento (semanas)	Crecimiento C (cm)		%E
	Experimental	Calculado	
1	1,5	1,4511	3,36985735
2	2	2,4375	17,9487179
3	4	3,1515	26,9236871

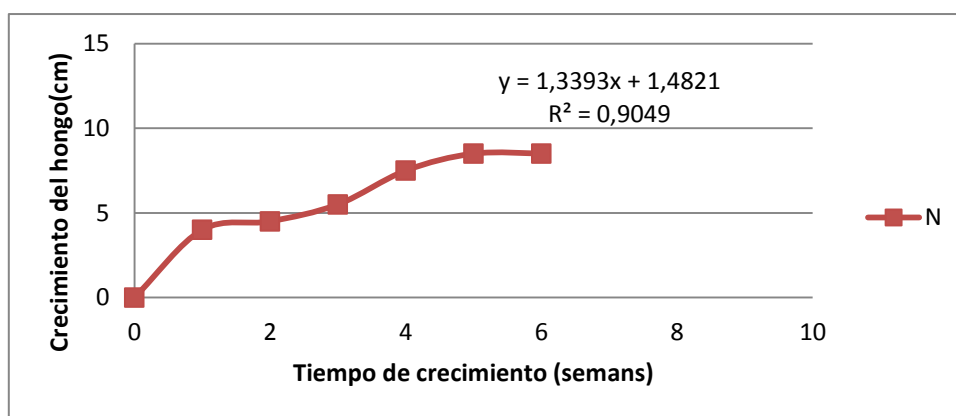


**Gráfico 53. Crecimiento del hongo en función del tiempo para la muestra I calculado y experimental pH 5,15.**

## MUESTRA N

**Tabla 75. Datos de crecimiento de la muestra N para el crecimiento del hongo con un pH de 5,15 en un tiempo de 6 semanas.**

X (Tiempo de crecimiento (semanas))	Y (Crecimiento N (cm))
1	4
2	4,5
3	5,5
4	7,5
5	8,5
6	8,5

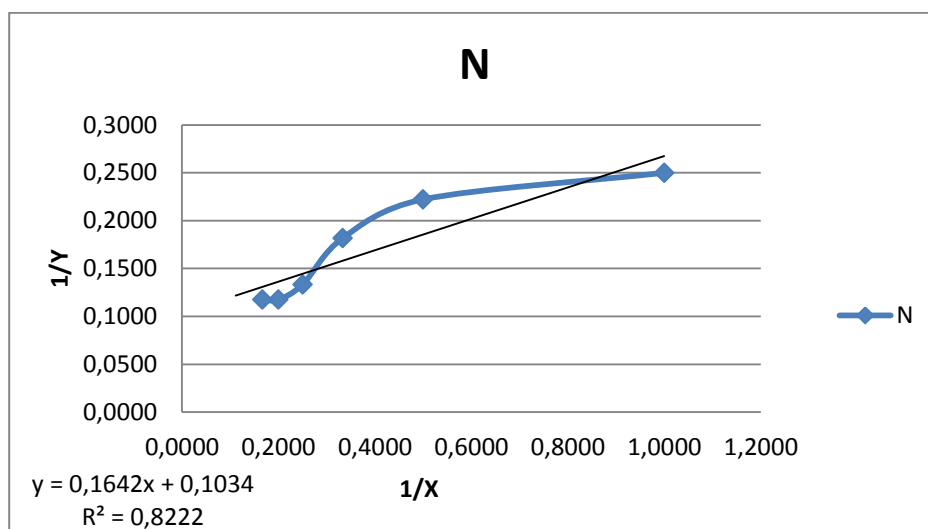


**Gráfico 54. Crecimiento del hongo vs tiempo de crecimiento para la muestra N pH de 5,15**

**Tabla 76. Datos de linealización de la muestra N para el crecimiento del hongo con un pH de 5,15 en un tiempo de 6 semanas.**

X (Tiempo de crecimiento (semanas))	Y (Crecimiento N (cm))	1/X	1/Y
1	4	1,0000	0,2500
2	4,5	0,5000	0,2222
3	5,5	0,3333	0,1818
4	7,5	0,2500	0,1333
5	8,5	0,2000	0,1176
6	8,5	0,1667	0,1176





**Gráfico 55. Curva (1/Y) vs (1/X) .Linealización para la muestra N con pH 5,15.**

$$1/Y = 0,1642(1/X) + 0,1034$$

$$b = \frac{1}{K1}$$

$$K1 = \frac{1}{0,1034}$$

$$K1 = 9,6712$$

$$m = \frac{k2}{K1} = 0,1642$$

$$K2 = m * K1$$

$$K2 = 0,1642 * 9,6712$$

$$K2 = 1,5880$$

$$y = \frac{9,6712X}{1,5880 + X}$$

**Tabla 77. Crecimiento del hongo de la muestra N para el crecimiento del hongo con un pH de 5,15 experimental y calculado.**

Tiempo de crecimiento (semanas)	Crecimiento C (cm)		%E
	Experimental	Calculado	
1	4	3,7369	-7,04059515
2	4,5	5,3908	16,5244491
3	5,5	6,3238	13,0269775
4	7,5	6,9228	-8,33766684
5	8,5	7,3400	-15,8038147
6	8,5	7,6472	-11,1517941

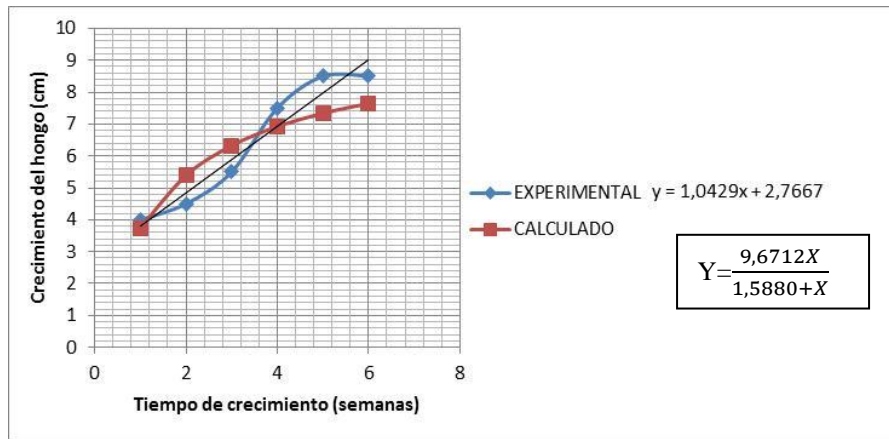


Gráfico 56. Crecimiento del hongo en función del tiempo para la muestra N calculado y experimental pH 5,15.

#### MUESTRA R.

Tabla 78. Datos de crecimiento de la muestra R para el crecimiento del hongo con un pH de 5,15 en un tiempo de 9 semanas.

X (Tiempo de crecimiento (semanas))	Y (Crecimiento R (cm))
1	2
2	4
3	4,5
4	4,5
5	4,5
6	5,5
7	6,5
8	6,5
9	6,5

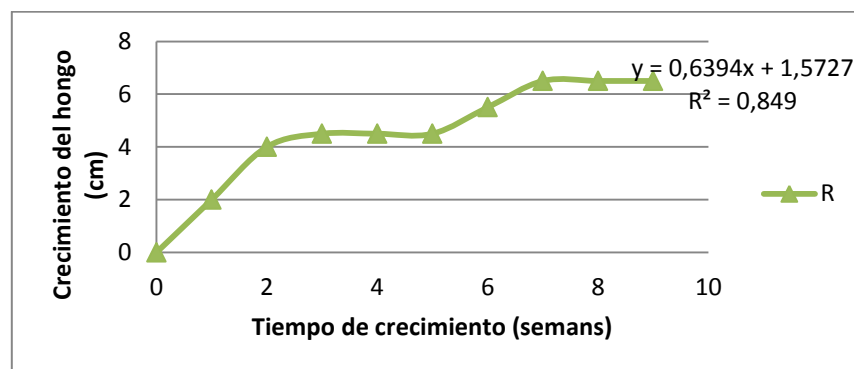
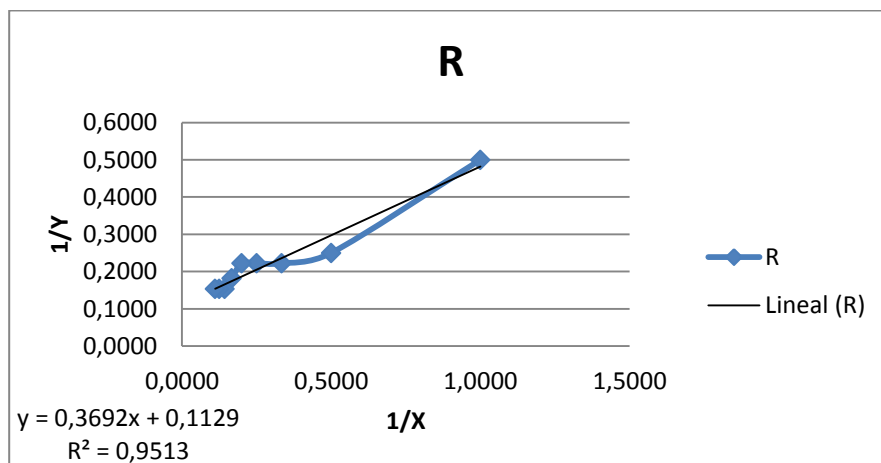


Gráfico 57. Crecimiento del hongo vs tiempo de crecimiento para la muestra R pH 5,15.

**Tabla 79. Datos de linealización de la muestra R para el crecimiento del hongo con un pH de 5,15 en un tiempo de 9 semanas.**

X (Tiempo de crecimiento (semanas))	Y (Crecimiento R (cm))	1/X	1/Y
1	2	1,0000	0,5000
2	4	0,5000	0,2500
3	4,5	0,3333	0,2222
4	4,5	0,2500	0,2222
5	4,5	0,2000	0,2222
6	5,5	0,1667	0,1818
7	6,5	0,1429	0,1538
8	6,5	0,1250	0,1538
9	6,5	0,1111	0,1538



**Gráfico 58. Curva (1/Y) vs (1/X). Linealización para la muestra R con pH 5,15.**

$$1/Y = 0,2692(1/X) + 0,1129$$

$$b = \frac{1}{K1}$$

$$K1 = \frac{1}{0,1129}$$

$$K1 = 8,8573$$

$$m = \frac{k2}{K1} = 0,2692$$

$$K2 = m * K1$$

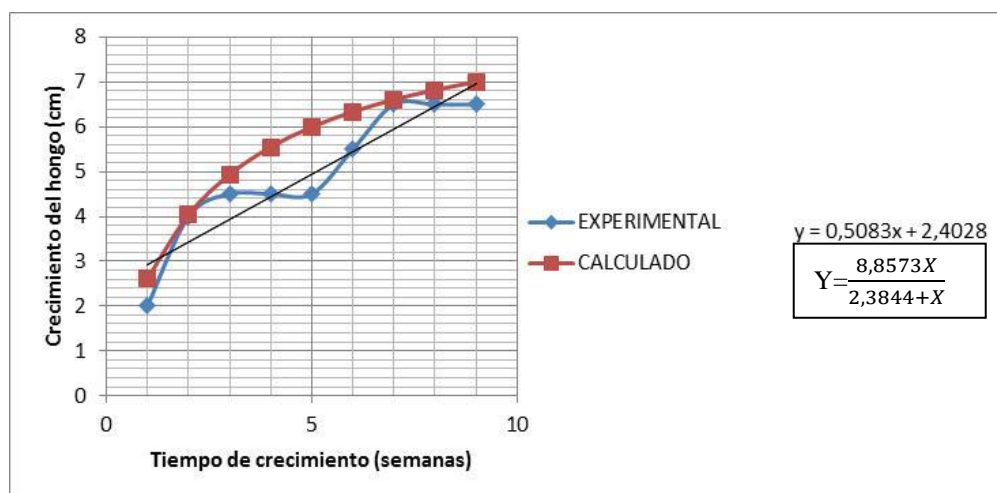
$$K2 = 0,2692 * 8,8573$$

$$K2 = 2,3844$$

$$y = \frac{8,8573X}{2,3844 + X}$$

**Tabla 80. Crecimiento del hongo de la muestra R para el crecimiento del hongo con un pH de 5,15 experimental y calculado.**

Tiempo de crecimiento (semanas)	Crecimiento C (cm)		%E
	Experimental	Calculado	
1	2	2,617	23,5766144
2	4	4,0403	0,99745068
3	4,5	4,9349	8,8127419
4	4,5	5,5493	18,9086912
5	4,5	5,9973	24,9662348
6	5,5	6,3384	13,2273129
7	6,5	6,6068	1,61651632
8	6,5	6,8235	4,74096871
9	6,5	7,0021	7,17070593



**Gráfico 59. Crecimiento del hongo en función del tiempo para la muestra R calculado y experimental pH 5,15.**

**Tabla 81. Datos de crecimiento del grupo de muestras para el crecimiento del hongo con un pH de 5,15.**

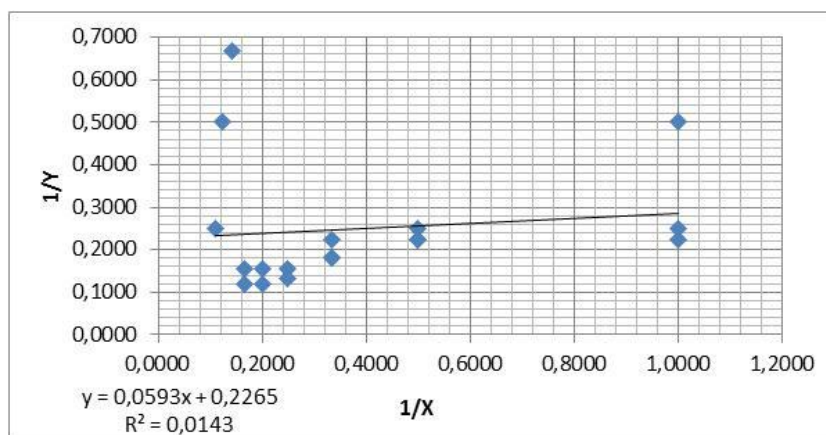
Y (crecimiento del hongo) cm	x(tiempo de crecimiento )semanas
2	1
4	2
4,5	3
4,5	1
4,5	2
5,5	3
6,5	4
6,5	5
6,5	6
4	1

Continuación de la Tabla 83.

4,5	2
5,5	3
7,5	4
8,5	5
8,5	6
1,5	7
2	8
4	9

**Tabla 82. Datos de linealización de las muestras con un pH de 5,15.**

Y (crecimiento del hongo) cm	x(tiempo de crecimiento) semanas	1/Y	1/X
2	1	0,5000	1,0000
4	2	0,2500	0,5000
4,5	3	0,2222	0,3333
4,5	1	0,2222	1,0000
4,5	2	0,2222	0,5000
5,5	3	0,1818	0,3333
6,5	4	0,1538	0,2500
6,5	5	0,1538	0,2000
6,5	6	0,1538	0,1667
4	1	0,2500	1,0000
4,5	2	0,2222	0,5000
5,5	3	0,1818	0,3333
7,5	4	0,1333	0,2500
8,5	5	0,1176	0,2000
8,5	6	0,1176	0,1667
1,5	7	0,6667	0,1429
2	8	0,5000	0,1250
4	9	0,2500	0,1111



**Gráfico 60. Curva (1/Y) vs (1/X) .Linealización para las muestras con pH 5.15**

$$1/Y=0,0593(1/X)+0,2265$$

$$b = \frac{1}{K1}$$

$$K1 = \frac{1}{0,2265}$$

$$K1=4,4150$$

$$m = \frac{k2}{K1} = 0,0593$$

$$K2 = m * K1$$

$$K2 = 0,0593 * 4,4150$$

$$K2 = 0,2618$$

$$y = \frac{4,4150X}{0,2618 + X}$$

**Tabla 83. Crecimiento del hongo de la muestras del crecimiento del hongo con un pH de 5,15 experimental y calculado.**

Y (crecimiento del hongo) cm	x(tiempo de crecimiento )semanas	Crecimiento calculado del hongo (cm)	%E
2	1	3,4989	42,839178
4	2	3,9039	-2,4616
4,5	3	4,0606	-10,8211
4,5	1	3,4989	-28,6118
4,5	2	3,9039	-15,2693
5,5	3	4,0606	-35,4480
6,5	4	4,1437	-56,8646
6,5	5	4,1953	-54,9353
6,5	6	4,2304	-53,6498
4	1	3,4989	-14,3216
4,5	2	3,9039	-15,2693
5,5	3	4,0606	-35,4480
7,5	4	4,1437	-80,9977
8,5	5	4,1953	-102,6077
8,5	6	4,2304	-100,9266
1,5	7	4,2558	64,7540
2	8	4,2750	53,2164
4	9	4,1953	4,6552

**Tabla 84. Datos de altura y constante de crecimiento para cada muestra .**

pH	#	TIEMPO DE CRECIMIENTO (SEMANAS)	K1	K2	ECUACION
7,5	C	3	40,4858	21,3563	$Y=((40,4858X)/(621,3563+X))$
	F	6	69,444	20,6319	$Y=((69,444X)/(20,6319+X))$
	A	9	22,0264	21,3523	$Y=((22,0264X)/(21,3523+X))$
7	D	3	34,2465	14,5547	$Y=((34,2465X)/(14,5547+X))$
	B	6	27,7008	9,59	$Y=((27,7008X)/(9,5900+X))$
	E	9	34,2465	19,6815	$Y=((34,2465)/(19,6815+X))$
6,63	J	3	14,6413	1,8975	$Y=((14,9031X)/(1,8975+X))$
	P	6	39,2156	7,5529	$Y=((39,2156)/(7,5529+X))$
	K	9	23,6407	3,5768	$Y=((23,6407)/(3,5768+X))$
6,29	G	3	19,5694	7,4227	$Y=((19,5694)/(7,4227+X))$
	L	6	27,9329	8,1201	$Y=((27,9329)/(8,1201+X))$
	O	9	30,581	10,7125	$Y=((30,581)/(10,7125+X))$
5,7	H	3	12,5471	5,2622	$Y=((12,5471)/(5,2622+X))$
	M	6	38,7596	19,8604	$Y=((38,7596)/(19,8604+X))$
	Q	9	34,602	21,7958	$Y=((34,602)/(21,7958+X))$
5,15	I	3	7,6103	4,2443	$Y=((7,6103)/(4,2443+X))$
	N	6	9,6712	1,588	$Y=((9,6712)/(1,588+X))$
	R	9	8,8573	2,3844	$Y=((8,8573)/(2,3844+X))$

K1= Altura máxima

K2= Constante de crecimiento del hongo.

**Tabla 85. Resultado de altura y constante de crecimiento para cada grupo de muestras.**

pH	K1(Altura máxima)	K2 Constante de crecimiento del hongo	Ecuación del modelo cinético logístico por grupo de pH.
7,5	10,1936	3,9184	$Y=((14,9031X)/(6,4768+X))$
7	10,6496	2,9275	$Y=((14,9031X)/(6,4768+X))$
6,63	13,5135	1,0338	$Y=((14,9031X)/(6,4768+X))$
6,29	12,1802	2,1875	$Y=((14,9031X)/(6,4768+X))$
5,7	8,5984	2,4866	$Y=((14,9031X)/(6,4768+X))$
5,15	4,115	0,2618	$Y=((14,9031X)/(6,4768+X))$

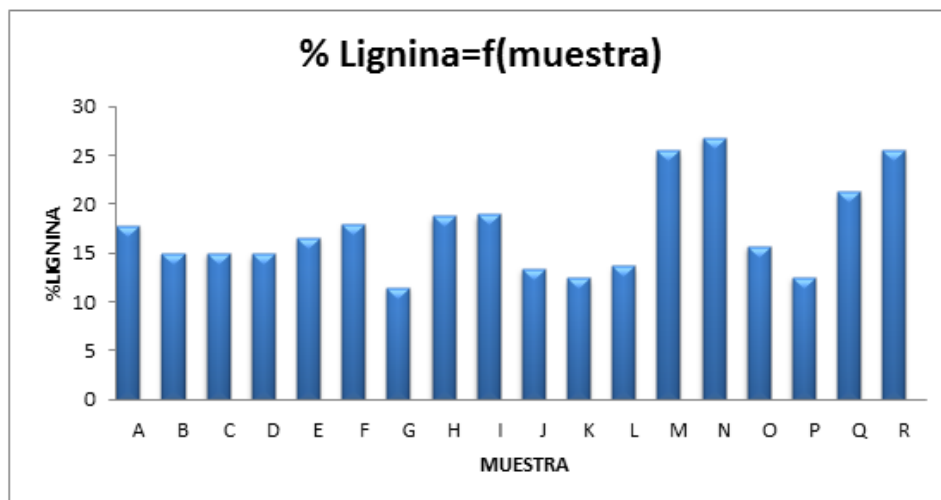
### 3.7 Tratamiento estadístico

#### 3.7.1 Análisis Estadístico aplicado al tratamiento dado a los sustratos con en Hongo Trametes Versicolor.

Para determinar las condiciones del tratamiento de desalinización con el Hongo Trametes Versicolor a utilizarse en el sustrato, se realizará Análisis de Varianza y regresiones lineales

simples y múltiples, debido a que se tienen dos variables independientes que influyen en el porcentaje de lignina Final (variable dependiente), de lo que tenemos:

- % lignina Final: Variable Dependiente (Y).
- pH variable cuantitativa (X1)
- Tiempo: Variable Cuantitativa (X2)



**Gráfico 61. Porcentaje de lignina después del tratamiento con el Hongo Trametes Versicolor en cada una de las muestras.**

**Tabla 86. Datos de crecimiento, pH y porcentaje de lignina en cada muestra al final del tratamiento con el Hongo Trametes Versicolor.**

Muestra	Potencial (pH)	Tiempo de crecimiento (Semanas)	Lignina (%)
A	7,5	9	17,83
B	7	6	14,87
C	7,5	3	15,02
D	7	3	14,87
E	7	9	16,62
F	7,5	6	17,98
G	6,29	3	11,45
H	5,7	3	18,76
I	5,19	3	18,97
J	6,63	3	13,38
K	6,63	9	12,43
L	6,29	6	13,69



Continuación de la Tabla 89.

M	5,8	6	25,45
N	5,15	6	26,83
O	6,29	9	15,67
P	6,63	6	12,56
Q	5,7	9	21,23
R	5,15	9	25,60

**Tabla 87. Datos utilizados para la Estadística del Tratamiento con el Hongo Trametes Versicolor.**

Muestra	pH (X1)	tiempo (semanas) (X2)	%Lignina final (Y)
A	7,5	9	17,83
B	7	6	14,87
C	7,5	3	15,02
D	7	3	14,87
E	7	9	16,62
F	7,5	6	17,98
G	6,29	3	11,45
H	5,7	3	18,76
I	5,19	3	18,97
J	6,63	3	13,38
K	6,63	9	12,43
L	6,29	6	13,69
M	5,8	6	25,45
N	5,15	6	26,83
O	6,29	9	15,67
P	6,63	6	12,56
Q	5,7	9	21,23
R	5,15	9	25,6

### 3.7.1.1 Resultado del Análisis Estadístico del Pre tratamiento (Ver Anexo 4)

**Tabla 88. Resultado del análisis de Varianza y Prueba F para el tratamiento con el hongo Trametes Versicolor**

Variable	Grados de Libertad	F experimental	F teórico
<b>X1</b>	1	154,52	4,45

Continuación de la Tabla 90.

<b>X2</b>	1	1,0853	4,45
<b>Combinaciones</b>			
<b>X1,X2</b>	2	6,2791	3,59
<b>TOTAL</b>	17		

Cuando:

$F_{exp} < F_{teo}$  : Hipótesis  $H_0$

$F_{exp} > F_{teo}$  : Hipótesis  $H_1$

Como la regresión con 1 variables ( $X_1$ ) es la más significativa, se tiene la Ecuación modelo de los valores obtenidos en la incidencia del pH en el la destrucción de la lignina:

$$\%lignina\ Final = 29,4388(pH) + 5,3438 \quad (13)$$

$$\%lignina\ Final = 3,6270(pH) + 0,4662(tiempo\ de\ crecimiento) + 37,7657 \quad (14)$$

### 3.7.1. Análisis Estadístico aplicado a la influencia de la lignina en el % de azúcares reductores.

**Tabla 89. Datos utilizados para la Estadística de la influencia de la lignina en la presencia de azúcares reductores.**

<b>Lignina (X3)</b>	<b>Azúcares reductores (Y*)</b>
15,02	0,231
14,87	0,216
13,38	0,440
11,45	0,414
18,76	0,163
18,97	0,178
17,98	0,243
14,87	0,251
12,56	0,587
13,69	0,448
25,45	0,172

Continuación de la Tabla 91.

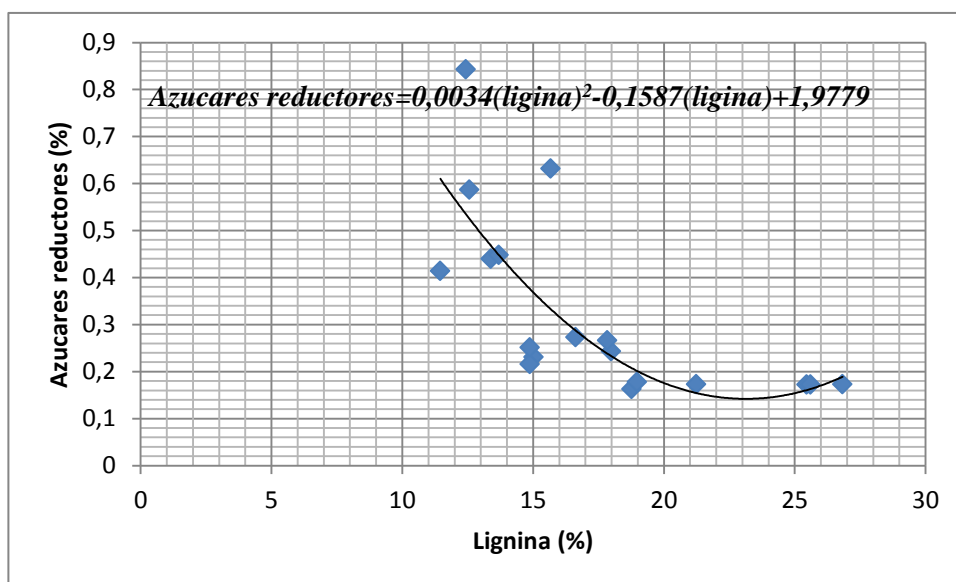
26,83	0,173
17,83	0,266
16,62	0,273
12,43	0,843
15,67	0,632
21,23	0,173
25,60	0,172

**Tabla 90. Resultado del análisis de Varianza y Prueba F para la influencia de la lignina en la presencia de los azúcares reductores.**

Variable	Grados de Libertad	F experimental	F teórico
<b>X1</b>	1	9,34	4,45
<b>TOTAL</b>	17		

Como la regresión con 1 variables (X1 ) es la más significativa, tenemos la Ecuación modelo de los valores obtenidos en el % de lignina si afecta la producción de azúcares reductores :

$$\text{Azúcares reductores} = 0,0034(\text{lignina})^2 - 0,1587(\text{lignina}) + 1,9779$$



**Gráfico 62. Gráfico azúcares reductores vs %lignina**

#### 4. DISCUSIÓN

- ✓ El trabajo realizado por el hongo *Trametes Versicolor* en la descomposición de lignina del residuo pseudomasico del plátano, producto de la hidrólisis enzimática realizada por peroxidasas, manganeso peroxidasas, y Lacasa tiene una eficiencia del 62,90% ya que al inicio del tratamiento con el macromiceto se tiene 46,91% de lignina y al final del tratamiento en promedio se obtuvo 17,40 lo cual demuestra que la acción enzimática sobre el sustrato es efectiva.
- ✓ El rendimiento que se obtiene en la hidrólisis enzimática de la celulosa usando celulasas es del 34,20% de azúcares reductores en promedio para todas las muestras y para la muestra k con un pH de 6,63 y un tiempo de crecimiento de 9 semanas el rendimiento llega a ser del 84,3%, esta muestra tienen porcentajes de lignina final 12,43%, lo que explica que el rendimiento de la conversión de celulosa a azúcares reductores sea alto ya que las cadenas de celulosa están más expuestas, gracias a la ausencia de lignina lo que permite que el trabajo de las enzimas sea más eficiente.
- ✓ La muestra K que presentó mejores resultados de deslignificación, por ende mayor rendimiento en la hidrólisis de celulosa presentó de igual forma mayor rendimiento de alcohol de 30.32%, pero este rendimiento podría elevarse si se hace un estudio de fermentación donde se establezcan parámetros como la concentración de levadura, pH y nutrir el mosto y que ayude a la levadura a potencializar su actividad.
- ✓ Si analizamos por separado cada uno de los parámetros que controlamos en el crecimiento del hongo notamos que el pH influye de manera más significativa en su crecimiento, en comparación con el tiempo de crecimiento, esto resulta ser trascendental en el crecimiento del hongo, ya que a mayor crecimiento mayor deslignificación del sustrato en todas las muestras con las que se trabajó y se pudo observar que el mejor desarrollo del micelio se realizó a un potencial de 6,63.
- ✓ Para la realización de esta investigación se consideró materiales ligno-celulósicos que no tienen ningún valor económico, como lo es el residuo pseudomasico del plátano, estos fueron tomados de Santo Domingo de los Tsachilas de la variedad Musa Paradisiaca, debiendo tomarse en cuenta que dependiendo de donde se cultive se tendrán diferentes valores de lignina y celulosa.

- ✓ Se conoce que el porcentaje de lignina tiene repercusión en el porcentaje de azúcares reductores que se obtengan, ya que al recubrir a la celulosa esta no se desdobla y no hay producción de estos. Las medidas del porcentaje de lignina se tomaron en el sustrato sin tratamiento con el hongo *Trametes Versicolor* y la otra medida al final de cada intervalo de crecimiento. Para la cuantificación del porcentaje de lignina se hizo uso del método de Klason dado en la norma TAPPI T222, lo que nos permitió tener valores de cada una de las muestras y se tuvo un parámetro para darnos cuenta como trabajaba el Hongo, estableciendo así los mejores tiempos de residencia.
- ✓ En cuanto a las condiciones de temperatura de crecimiento del hongo solamente se estableció una, ya que la cepa viene de un clima cálido, como lo es el de Esmeraldas, se intento conservar este parámetro en valores mayores a 28 °C en el invernadero, con ayuda de calefactores para que no sea una variable la temperatura.
- ✓ En el pre tratamiento que se hace con el Hongo *Trametes Versicolor* el pH fue la variable estadísticamente significativas, debido a que; para rangos de pH de 6 tiene mayor deslignificación el sustrato y aunque estadísticamente el tiempo de crecimiento no sea representativo podemos notar por las graficas que el mejor tiempo son 9 semanas, ya que en este tiempo el porcentaje de lignina es mejor.
- ✓ En la Hidrólisis Enzimática se establecieron temperaturas de trabajo y pH gracias a la investigación bibliográfica que se realizó con la misma enzima y en un sustrato similar realizados en otras investigaciones y en las hojas técnicas de la enzima celulasas suministradas por el proveedor estableciendo que el pH óptimo en 5 y la temperatura de trabajo en 50°C y en un porcentaje de 2% ( peso /peso ) , además por pruebas que se realizaron en el laboratorio se observó que el tamaño de la partícula del sustrato es importante ya que hay mejor área de contacto con la enzima celulasas y este debe ser menor a 0,04mm obteniéndose mayor rendimiento de azúcares reductores .
- ✓ La producción de azúcares reductores fue considerable en promedio el rendimiento en las muestras fue de 34,20 % y el valor mas alto que se registran en la muestra K es de 84 % de azúcares reductores.
- ✓ Para la fermentación se siguieron técnicas dadas en la bibliografía donde se estable el porcentaje de levadura, temperatura y pH, estos parámetros fueron 37 °C un pH de 4,5 y 2% de levadura.

- ✓ Se logró observar que en la etapa inicial de la fermentación hubieron muestras en el que el burbujeo era inmediato y otras en las que no, probablemente porque no existían ciertos niveles de nutrientes necesarios, por lo que se deduce que la levadura no se acopló al medio, es decir que el desempeño en la etapa de crecimiento fue ineficaz, afectando al rendimiento final.
- ✓ El rendimiento de alcohol fue bajo en promedio fue de 8,14% para las muestras en general, para la muestra que mayor rendimiento presenta es para K con un valor de 30,32%

## 5. CONCLUSIONES

- ✓ A lo largo de la realización de este trabajo de investigación se cumplieron las metas que se propusieron en el plan de investigación, se caracterizó la composición del excedente orgánico de plátano para cuantificar la cantidad de lignina, pudiendo tener un parámetro que nos permite visualizar que el proceso de hidrólisis enzimático que sufre el hongo *Trametes Versicolor* en su crecimiento micelar es deslignificante y estableciendo así el pH y tiempo de crecimiento óptimo en el que se realiza este proceso de la mejor manera.
- ✓ Lo que se propone en esta investigación, es obtener alcohol de un desecho sin atentar contra las reservas alimentarias de la población, se plantea hacer uso de los restos orgánicos producto del cultivo y consumo del plátano, este desecho en la actualidad no cuenta con ningún tipo de manejo o uso, por lo que la obtención de alcohol de este remanente es conveniente, ya que ayuda a que estos no sean un problema ambiental, se le da un valor agregado y la producción de alcohol con fines de biocombustible contribuye con el esfuerzo de disminuir con el calentamiento global y limita la dependencia energética que tenemos con el petróleo.
- ✓ Como la planta de plátano necesita de dióxido de carbono para su crecimiento, al momento de la combustión del alcohol este no entra en el balance neto, es decir el dióxido de carbono forma parte de un flujo de circulación natural entre la atmósfera y la vegetación por lo que no representa un incremento en las emisiones, y no contribuye con el efecto en el calentamiento global.
- ✓ De los resultados del presente trabajo se tiene que las mejores condiciones para deslignificar el sustrato basado en residuo pseudomasico de plátano es un pH 6,63 (que se mantengan en el rango de 6) y por un tiempo mayor a 3 semanas. El resultado óptimo fue dado por la muestra k con un tiempo de crecimiento de 9 semanas, un pH inicial de siembra del hongo de 6,63.
- ✓ El crecimiento del hongo fue ajustado con un modelo logístico tipo hiperbólico, el cual se realizó de una manera apropiada y con un error aceptable en la mayoría de muestras, el menor error se dio con las muestras que tuvieron un pH siembra 6,63, las ecuaciones de ajuste de cada modelo se muestran en la tabla 76 y las ecuaciones de ajuste por grupo de pH se muestran en la tabla 77.

- ✓ Posterior al tiempo de 6 semanas el sustrato debe ser nutrido ya que el hongo no cuenta con el compuesto necesario para desarrollar el cuerpo del hongo.
- ✓ La cuantificación de los azúcares reductores fue sumamente importante debido a que los grados Brix medidos no son valores reales de los azúcares reductores en la muestra.
- ✓ La fermentación debe realizarse en un medio aislado, contar con la esterilización de equipos, materiales y sustancias a utilizarse, mecanismos propios para evitar la proliferación de bacterias y compuestos inhibidores perjudiciales para el proceso.
- ✓ Procedimientos como el estudiado permiten ayudar a disminuir los impactos en el medio ambiente, con la producción de bioetanol a partir de residuos industriales, que a más de ello no van a ser considerados como contaminantes debido a su quema o disposición final inadecuada.
- ✓ El rendimiento de azúcares reductores en promedio para todas las muestras es de 34,20% y el de porcentaje de alcohol es de 8, 14%.
- ✓ Las muestras con mayores rendimientos tanto en azúcares reductores como en porcentaje de alcohol son las muestras L y K , estas muestras se desarrollaron en un pH de 6,63 , L en un tiempo de 6 semanas y K en 9 semanas este ultimo registro 12,43% de lignina final y 30,32 % de alcohol obtenido por cada 100 gr de sustrato.



## 6 RECOMENDACIONES

- ✓ Se recomienda que la siembra del hongo no sea en un solo lugar de la bolsa de sustrato si no que sea en varias secciones para que el crecimiento sea más extenso y la producción de enzimas lignina peroxidasas, manganeso peroxidasas y lacasa que se encargan de la destrucción de lignina sea mayor.
- ✓ Se debe estudiar de mejor manera como nutrir el sustrato para que el crecimiento del hongo culmine en el cuerpo y en proceso del pre tratamiento no solo sea de micelio.
- ✓ Se debe implementar un proceso previo a la siembra del hongo en el sustrato, ya que este cuenta con una resina que muestra su presencia en la determinación de lignina, esta es de apariencia blanquecina espesa y puede ser limitante en el desarrollo del macromiceto.
- ✓ El proceso de fermentación es muy antiguo y extenso, por lo que se aconseja una investigación más profunda respecto a los diversos tipos de fermentación y sus condiciones para la obtención de mejores rendimientos de alcohol en especial encontrar las condiciones óptimas de trabajo con este sustrato.
- ✓ El diseño de los fermentadores a gran escala es otro tema a investigar con el fin de asegurar rendimientos satisfactorios, pues se deberá tomar en cuenta otros problemas de ingeniería.
- ✓ Realizar un estudio de los fenoles que se producen en el proceso de crecimiento de los hongos y encontrarles una utilidad.
- ✓ Se recomienda centrifugar la muestra antes de la destilación, ya que la presencia de las levaduras y sólidos en esta, provocan que la muestra se espume y que surjan inconvenientes.
- ✓ Se recomienda realizar un estudio económico, para analizar cuál sería el costo real de una planta para producir bioetanol, y conocer si es económicamente viable la fabricación de bioetanol en el Ecuador al considerar costos actuales de producción.
- ✓ Se aconseja que se realice un estudio de mercado, pruebas de aplicación en motores, construcción y técnicas de diseño para que la experimentación realizada en este trabajo pueda ser plasmada en un proceso industrial.

## CITAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] CHA, D. et al., 1997. Oyster Mushroom–Cultivation Technology and Management [en línea]. 374p [Fecha de consulta: 11 Diciembre 2011]. Disponible en: <http://redalyc.uaemex.mx/.html>.
- [2] AFANADOR, A. “El plátano verde de rechazo en la producción de alcohol carburante angélica maría afanador”, [en línea]. 2005. Número . Medellín, Colombia. Disponible [Fecha de consulta: 11 Diciembre 2011]. Disponible en: < <http://revista.eia.edu.com> >.
- [3] PALACIOS, A. “Utilización de residuos agroindustriales de la costa en la obtención de setas *Pleurotus ostreatus* var. *florida* y *Pleurotus pulmonarius* var. *florida*”. 2007. Tesis Ing, Alim. Universidad Técnica de Ambato-FCIAL, Ecuador. p.45.
- [4] ROMANO, S.; González E. y Laborde, M. 2005. “Combustibles Alternativos” [en línea]. Nuevas Tecnologías para la obtención de Biocombustibles. Ediciones Cooperativas. Buenos Aires, Argentina. [Fecha de consulta: 11 Diciembre 2011]. Disponible en: < <http://www.sian.info.ve> >.
- [5] ARDÓN, C. “La producción de los hongos comestibles”. 2007. Universidad de San Carlos de Guatemala. Tesis de Maestría en Docencia Universitaria con Especialidad en Evaluación Educativa, Guatemala [Fecha de consulta: 11 Diciembre 2011]. Disponible en: <<http://hongos-.reviberoammicol.com>. >.
- [6] SCRAGG, Alan. “Biotecnología para ingenieros, sistemas Biologicos en procesos tecnológicos”. Editorial Limusa, Mexico DF, 1997. pp. 182-183.
- [7] Taxonomia de hongos ,[en línea].2007.[Fecha de consulta: 11 Diciembre 2011]. Disponible en:[http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/html/776/77612900007/77612900007\\_1.htm](http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/html/776/77612900007/77612900007_1.htm)
- [8] AGUILAR, Leticia,”Produccion de inóculoss liquidos para hongos” [en línea].Puerto Rico. 2008. Guatemala [Fecha de consulta: 11 Diciembre 2011]. Disponible en: <<http://www.slideshare.net/paviruchi/hongos-4628608>. >.

- [9] WISEMAN, Alan. Manual de biotecnología en las enzimas. Editorial Acribia. Zaragoza. 1991 . 51-52-53p.
- [10] -----,-----.. Editorial Acribia. Zaragoza. 1991 .p.49.
- [11] -----,-----.. Editorial Acribia. Zaragoza. 1991 .p.50.
- [12] -----,-----.. Editorial Acribia. Zaragoza. 1991 .p.57.
- [13] Romano, S.; González E. y Laborde, M. 2005. “Combustibles Alternativos”.. Nuevas Tecnologías para la obtención de Biocombustibles. Ediciones Cooperativas. Buenos Aires, Argentina 2001, p.187.
- [14] MERCHUK, Jose. Microbiología Industria. OEA. p.16.
- [15] RITTER, Howard. Introduccion a la química. Editorial Reverte S.A. Barcelona. 1956. 198p
- [16] MERCHUK, Jose. Microbiología Industria. OEA. p.33.
- [17] ANDREWS Donald y KOKES, Richard. Química Fundamental. Segunda Edición. Editorial Limusa Wiley S.A. México. 1968. p253.

## BIBLIOGRAFÍA

- ANDREWS Donald y KOKES, Richard. Química Fundamental. Segunda Edición. Editorial Limusa Wiley S.A. México. 1968. 350p
- AFANADOR, A. “El plátano verde de rechazo en la producción de alcohol carburante angélica maría afanador”, [en línea]. 2005. Número . Medellín, Colombia. Disponible [Fecha de consulta: 11 Diciembre 2011]. Disponible en: <: <http://revista.eia.edu.com> >.
- AGUILAR, Leticia,”Produccion de inóculoss liquidos para hongos” [en línea].Puerto Rico. 2008. Guatemala [Fecha de consulta: 11 Diciembre 2011]. Disponible en: <<http://www.slideshare.net/paviruchi/hongos-4628608>. >
- ARDÓN, C. “La producción de los hongos comestibles”. 2007.Universidad de San Carlos de Guatemala. Tesis de Maestría en Docencia Universitaria con Especialidad en Evaluación Educativa, Guatemala [Fecha de consulta: 11 Diciembre 2011]. Disponible en: <<http://hongos-reviberoammicol.com>. >.
- CHA, D. et al., 1997. Oyster Mushroom–Cultivation Technology and Management [en línea]. 374p [Fecha de consulta: 11 Diciembre 2011]. Disponible en: < <http://redalyc.uaemex.mx/.html>. >.
- FALCONÍ, María. ESRIMACIÓN DE LOS RENDIMIENTOS DE ALCOHOL OBTENIDO A PARTIR DE MATERIALES LIGNOCELULÓSICOS. Trabajo de Grado para la obtención del Título de Ingeniería Química. 2011.
- FONSECA, Beatriz. HIDRÓLISIS ACIDA DE SUSTRATOS RESIDUALES AGROINDUSTRIALES COLOMBIANOS. Umbral Científico, junio, número 008. Colombia. 2006.
- PALACIOS, A. “Utilización de residuos agroindustriales de la costa en la obtención de setas Pleurotus ostreatus var. florida y Pleurotus pulmonarius var. florida”. 2007. Tesis Ing. Alim. Universidad Técnica de Ambato-FCIAL, Ecuador. 225 p.

- MERCHUK, Jose. Microbiología Industria. OEA. 103 p.
- PONCE, T. y PÉREZ O. 2002. “Celulasas y xilanasas en la industria”. Departamento de Biotecnología y Bioingeniería del Cinvestav. México, D.F. Disponible en: <http://www.cinvestav.mx>.
- RITTER, Howard. Introduccion a la química. Editorial Reverte S.A.Barcelona.1956. 684p
- RODRÍGUEZ, I. y PIÑEROS, Y. “Producción de complejos enzimáticos celulolíticos mediante el cultivo en fase sólida de *Trichoderma* sp. sobre los racimos vacíos de palma de aceite como sustrato”. [en línea]. 2007. Programa Ingeniería de Alimentos. Universidad Jorge Tadeo Lozano. Bogotá, Colombia. [Fecha de consulta: 11 Diciembre 2011]. Disponible en: < <http://www.scielo.org.com> >.
- ROMANO, S.; González E. y Laborde, M. 2005. “Combustibles Alternativos” [en línea]. Nuevas Tecnologías para la obtención de Biocombustibles. Ediciones Cooperativas. Buenos Aires, Argentina. 269p.
- SCRAGG, Alan. “Biotecnologia para ingenieros, sistemas Biologicos en procesos tecnológicos”. Editorial Limusa, Mexico DF, 1997. 410p.
- Taxonomia de hongos ,[en línea]. 2007. [Fecha de consulta: 11 Diciembre 2011]. Disponible en: <[http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/html/776/77612900007/77612900007\\_1.html](http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/html/776/77612900007/77612900007_1.html). >.
- WISEMAN, Alan. Manual de biotecnología en las enzimas. Editorial cribia. Zaragoza. 1991. 435p.
- TAIZ, Lincoln y ZEIGER, Eduardo. Fisiología vegetal. 1. Universitat Jaume I. 2006. 549 p.

## **ANEXOS**

## **ANEXO A.**

### **Fotografías de la Experimentación**

#### **Hongo Trametes Versicolor.**



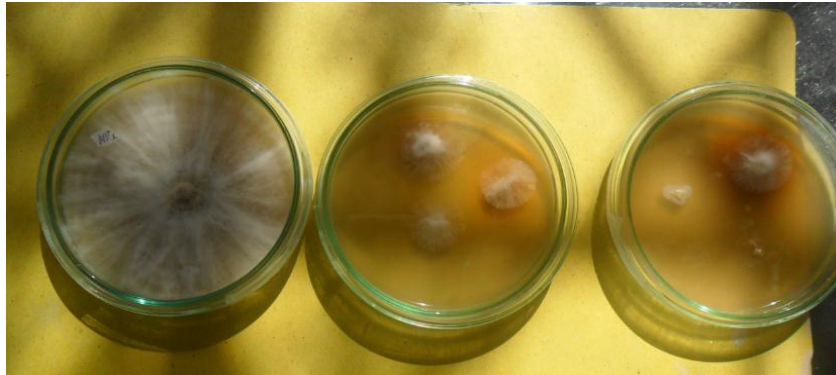
**Figura 1. Vista frontal**



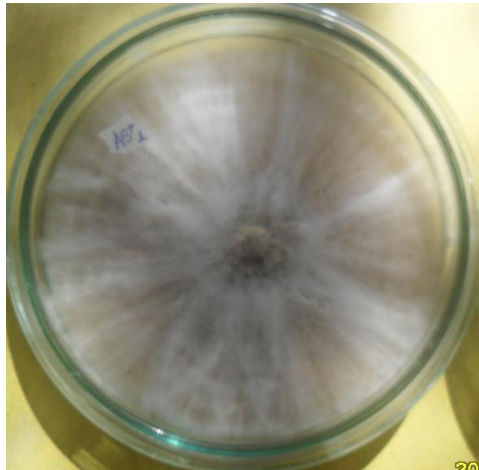
**Figura 2. Vista lateral**

## Preparacion de los inóculos

### Inóculo 1



**Figura 3. Cajas Petri con micelio del hongo Trametes Versicolor.**



**Figura 4. Colonización total del hongo.**

### Inóculo 2.



**Figura 5. Micelio del hongo Trametes Versicolor en quinua.**





**Figura 6. Incubadora con micelio del hongo *Trametes Versicolor* en quinua.**



**Figura 7. Colonización del micelio del hongo *Trametes Versicolor* en quinua.**

### **Inóculo 3**



**Figura 8. Micelio del hongo *Trametes Versicolor* en el residuo del platano.**



**Figura 9. Inoculo 3 en el invernadero.**

### **Hidrolisis enzimática**



**Figura 10. Hidrólisis enzimática usando Celulasas.**

### **Fermentación**



**Figura 11. Fermentación alcohólica.**

## Destilación de las muestras



**Figura 20** Equipo de destilación.

## ANEXO B.

### Tratamiento Estadístico Pre tratamiento.

### Estadística del Tratamiento con el Hongo Trametes Versicolor

$$Y=f(X1)$$

<i>Estadísticas de la regresión</i>	
Coefficiente de correlación múltiple	0,95193
Coefficiente de determinación R <sup>2</sup>	0,90617
R <sup>2</sup> ajustado	0,90030
Error típico	2,23480
Observaciones	18,00000

#### ANÁLISIS DE VARIANZA

	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>
Regresión	1	771,7017	771,70	154,52	0,00
Residuos	16	79,9094	4,99		
Total	17	851,6111			

	<i>Coefficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>	<i>Superior 95%</i>	<i>Inferior 95,0%</i>	<i>Superior 95,0%</i>
Intercepción	5,3438	0,9571	5,5831	0,0000	3,3148	7,3729	3,3148	7,3729
Variable X 1	29,4388	2,3683	12,4304	0,0000	24,4182	34,4593	24,4182	34,4593

$$Y=f(X2)$$

<i>Estadísticas de la regresión</i>	
Coefficiente de correlación múltiple	0,25204402
Coefficiente de determinación R <sup>2</sup>	0,06352619
R <sup>2</sup> ajustado	0,00499658
Error típico	4,69113317
Observaciones	18

#### ANÁLISIS DE VARIANZA

	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>
Regresión	1	23,8854083	23,8854083	1,08536834	0,31298678
Residuos	16	352,107686	22,0067304		
Total	17	375,993094			

	<i>Coefficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>	<i>Superior 95%</i>	<i>Inferior 95,0%</i>	<i>Superior 95,0%</i>
Intercepción	14,5788889	2,92543551	4,98349351	0,0001353	8,37724265	20,7805351	8,37724265	20,7805351
Variable X 1	0,47027778	0,4514045	1,04181012	0,31298678	-0,48665701	1,42721257	0,48665701	1,42721257

$$Y=f(X1,X2)$$

Estadísticas de la regresión	
Coefficiente de correlación múltiple	0,66518293
Coefficiente de determinación R^2	0,44246834
R^2 ajustado	0,36813078
Error típico	3,73834238
Observaciones	18

#### ANÁLISIS DE VARIANZA

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Promedio de los cuadrados	F	Valor crítico de F
Regresión	2	166,365039	83,1825193	5,95215075	0,01250321
Residuos	15	209,628056	13,9752037		
Total	17	375,993094			

	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad	Inferior 95%	Superior 95%	Inferior 95,0%	Superior 95,0%
Intercepción	37,7657444	7,62683439	4,95169325	0,00017393	21,5095317	54,0219571	21,5095317	54,0219571
Variable X 1	3,62703919	1,13593879	3,19298822	0,00605008	-6,04823541	1,20584296	-6,04823541	-1,20584296
Variable X 2	0,46624773	0,35972438	1,29612493	0,21452084	-0,30048663	1,23298209	-0,30048663	1,23298209

Estadística para notar la influencia de la lignina en la obtención de azúcares reductores.

$$Y1=f(X3)$$

Estadísticas de la regresión	
Coefficiente de correlación múltiple	0,6072
Coefficiente de determinación R^2	0,3686
R^2 ajustado	0,3292
Error típico	0,1874
Observaciones	18,0000

#### ANÁLISIS DE VARIANZA

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Promedio de los cuadrados	F	Valor crítico de F
Regresión	1	0,3283	0,3283	9,3421	0,0075
Residuos	16	0,5622	0,0351		
Total	17	0,8905			

	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad	Inferior 95%	Superior 95%	Inferior 95,0%	Superior 95,0%
Intercepción	0,8516	0,1739	4,8965	0,0002	0,4829	1,2203	0,4829	1,2203
Variable X 1	-0,0295	0,0097	-3,0565	0,0075	-0,0500	-0,0091	-0,0500	-0,0091

## ANEXO C.



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR  
CENTRO DE TRANSFERENCIA Y DESARROLLO DE TECNOLOGÍAS



Proyecto Jardín Micológico del Ecuador CTT-UCE

Quito, 09 de Diciembre del 2011

### CERTIFICACIÓN

Especie fúngica colectada en: Provincia de Esmeraldas; Sustrato: Lignícola.

Colector : Marcia Valenzuela- Estudiante de la Facultad de Ingeniería Química-UCE

Número de colección: 004, (0)

Descripción taxonómica: **Macroscopia.**-Basidioma sésil y efuso -reflexo de 5 cm de diámetro, coriáceo,color plomizo con zonas concéntricas blanquecinas.

**Microscopia.**- Sistema hifal trimitico, basidioporas cilíndricas de 5 x 2  $\mu$ m.

Identificación taxonómica: Reino: Fungi, División: Basidiomycota, Clase: Agaricomycetes, Orden: Polyporales, Familia: Polyporaceae.

Nombre científico. *Trametes cf. versicolor* (L.) Lloyd

Comentarios: Especie con capacidad alta para descomponer madera.

Identificado y certificado por:

M.Sc. Paul Gamboa -Trujillo Blogo.  
Micólogo



Investigador/Fungario Alfredo Paredes -QAP-  
Centro de Transferencias y Desarrollo de Tecnologías Universidad Central del Ecuador. CTT-UCE/2011



Ciudad Universitaria - Edificio de la Ex Residencia Universitaria, 5to Piso  
Teléfono: (593) 02 321-6344 Telefax: 02 2984-798  
E-mail: ctt@uce.edu.ec/uce\_c tt@yahoo.es. Web: www.ctt-uce.com  
Quito - Ecuador

## ANEXO D.

### Proceso industrial sugerido

El proceso que se realizó a nivel de laboratorio, puede ser llevado a nivel industrial, para lo cual se tendrá que seguir el mismo que para el laboratorio a una escala mayor, donde el primer paso sería tener la materia prima conformada por el residuo biomásico del plátano como lo es el raquis, cascara y pseudotallo, lavado, secado y triturado hasta tamaño de 0,4 mm, luego se procederá a la siembra del hongo, esto se deberá realizar en un invernadero donde se controle la temperatura que sea mayor a 32 °C con una humedad del 80%, en este lugar se encontrará el sustrato húmedo, con el hongo inoculado y previamente adaptado, transcurrido un tiempo de crecimiento de 9 semanas, se podría optar como fuente de nitrógeno cascara de frejol o usarse urea y otras sales de fósforo y nutrientes que permitan el desarrollo potencializado del hongo, el material deslignificado pasaría a una hidrólisis enzimática usando celulasas en una concentración del 2%, con un pH de 5 y una temperatura de 55 °C en reactores donde se controle la temperatura, y agitación. Los azúcares reductores obtenidos luego del proceso enzimático pasarían a una fermentación, luego a una destilación y por último a una rectificación ya que a nivel industrial el uso que se le daría es el de biocombustible, para esta aplicación necesita estar a una concentración de 98 GL.

DIAGRAMA DE FLUJO DEL PROCESO INDUSTRIAL PARA LA OBTENCIÓN DE ALCOHOL A PARTIR DE LOS DESECHOS BIOMÁSICOS DEL PLÁTANO USANDO EL HONGO *TRAMetes VERSICOLOR* Y ENZIMAS CELULASAS

